Deutscher Bundestag **Drucksache 19/10060**

19. Wahlperiode 06.05.2019

Unterrichtung

durch die Bundesregierung

Achter Erfahrungsbericht der Bundesregierung über die Durchführung des Stammzellgesetzes

Inhaltsverzeichnis

Zugeleitet mit Schreiben des Bundesministeriums für Gesundheit vom 30. April 2019 gemäß § 15 des Stammzellgesetzes.

Seite

Seite

1 Prüfung und Genehmigung von Anträgen auf Einfuhr und Verwendung menschlicher embryonaler Stammzellen zu Forschungszwecken

1.1 Berichtsauftrag und Berichtszeitraum

Dieser Erfahrungsbericht erfolgt aufgrund von § 15 des Gesetzes zur Sicherstellung des Embryonenschutzes im Zusammenhang mit der Einfuhr und Verwendung menschlicher embryonaler Stammzellen (Stammzellgesetz – StZG) vom 28. Juni 2002 (BGBl. I S. 2277), zuletzt geändert durch das Gesetz zum Abbau verzichtbarer Anordnungen der Schriftform im Verwaltungsrecht des Bundes vom 29.03.2017 (BGBl I S. 626). Er umfasst den Zeitraum vom 1. Januar 2016 bis zum 31. Dezember 2017 (achter Berichtszeitraum).

1.2 Genehmigte Anträge und Genehmigungsverfahren

1.2.1 Übersicht über die im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben

Im vorangegangenen Berichtszeitraum (1. Januar 2014 bis 31. Dezember 2015, siebenter Berichtszeitraum) waren im Zusammenhang mit inhaltlich eigenständigen Projekten 17 Anträge auf Genehmigung der Einfuhr und/oder Verwendung humaner embryonaler Stammzellen (hES-Zellen) genehmigt worden. Am Ende dieses Berichtszeitraumes waren keine Anträge mehr anhängig.

Im aktuellen Berichtszeitraum (1. Januar 2016 bis 31. Dezember 2017) wurden im Zusammenhang mit inhaltlich eigenständigen und neuen Projekten 24 Anträge auf Genehmigung der Einfuhr und Verwendung bzw. Genehmigung der Verwendung von hES-Zellen gemäß § 6 StZG an das Robert Koch-Institut (RKI) als zuständige Genehmigungsbehörde gestellt. In einem weiteren Fall wurde die Erteilung einer Genehmigung zur eigenständigen Fortsetzung bereits genehmigter Forschungsarbeiten beantragt, die aber auch durch den ursprünglichen Genehmigungsinhaber fortgeführt werden sollen (Splitting der Genehmigung; 129. Genehmigung nach dem StZG). 24 dieser insgesamt 25 Anträge wurden im Berichtszeitraum genehmigt; über einen Antrag war am Ende des Berichtszeitraums noch nicht entschieden worden. Dabei ergingen aufgrund der Komplexität und Vielgestaltigkeit der beantragten Forschungsarbeiten in einem Fall zwei Genehmigungen auf einen Antrag (109. und 110. Genehmigung nach dem StZG); in zwei weiteren Fällen erfolgte die Antragstellung durch zwei natürliche Personen, an die jeweils formal getrennte, jedoch inhaltlich identische Genehmigungen ergingen (115. und 116. sowie 121. und 122. Genehmigung nach dem StZG), so dass im aktuellen Berichtszeitraum insgesamt 27 Genehmigungen erteilt wurden, von denen 25 inhaltlich verschieden sind.

Die im Berichtszeitraum erteilten 27 Genehmigungen ergingen an 22 Personen bzw. Institutionen, von denen sieben bereits im Besitz wenigstens einer zuvor erteilten Genehmigung für die Einfuhr und Verwendung humaner ES-Zellen waren. 15 Personen bzw. Institutionen erhielten folglich erstmals eine Genehmigung nach dem StZG; an einigen Institutionen ist weiterhin mehr als eine Forschergruppe mit hES-Zell-Forschung befasst.

Insgesamt wurden vom Inkrafttreten des StZG im Juli 2002 bis zum Ende des Berichtszeitraumes 132 Genehmigungen für die Einfuhr und/oder Verwendung von hES-Zellen an natürliche bzw. juristische Personen erteilt. Im Berichtszeitraum wurden insgesamt 18 in der Vergangenheit genehmigte Forschungsvorhaben beendet, sieben weitere Vorhaben waren bereits zuvor abgeschlossen worden. Die entsprechenden Genehmigungen nach dem StZG sind folglich erloschen. Am Ende des Berichtszeitraumes bestanden somit 107 Genehmigungen für die Durchführung von Forschungsvorhaben unter Verwendung von hES-Zellen, die teilweise mehrfach erweitert wurden. Derzeit können hES-Zellen von insgesamt 77 Arbeitsgruppen, die an 51 Einrichtungen (Universitäten, Universitätsklinika, Forschungsinstitutionen, Unternehmen etc.) tätig sind, für Forschungszwecke genutzt werden.

Im Berichtszeitraum wurde zudem 16-mal die Genehmigung für bereits laufende Forschungsvorhaben erweitert. In sieben Fällen wurden ausschließlich zusätzliche experimentelle Arbeiten an hES-Zellen für bereits laufende Vorhaben genehmigt, die thematisch zwar nahe an den bislang genehmigten Verwendungen von hES-Zellen lagen, jedoch über die zuvor genehmigten Forschungsarbeiten deutlich hinausgingen, so dass es einer erneuten Prüfung des Vorliegens der Kriterien des § 5 StZG und damit auch einer erneuten Prüfung und Bewertung durch die Zentrale Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES) bedurfte. Für ebenfalls sieben Vorhaben wurde die Einfuhr weiterer hES-Zell-Linien sowie deren Verwendung für die Durchführung bereits zuvor genehmigter Forschungsarbeiten beantragt und genehmigt, während in zwei Fällen sowohl zusätzliche Forschungsarbeiten als auch die Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen weiterer Linien genehmigt wurden. Die Einträge im Register nach § 11 StZG auf den Internetseiten des RKI wurden für die entsprechenden Genehmigungen jeweils ergänzt bzw. aktualisiert.

1.2.2 Angaben zu den im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben

Bis zum 31. Dezember 2015 (Ende des siebenten Berichtszeitraumes) waren 105 Genehmigungen nach dem StZG erteilt worden.

Die insgesamt 106. Genehmigung für die Einfuhr und Verwendung humaner ES-Zellen erging am 1. März 2016 an Herrn Prof. Dr. Christian Rosenmund, Charité – Universitätsmedizin Berlin. Gegenstand der Forschungsarbeiten ist die Untersuchung der molekularen und zellbiologischen Konsequenzen genetischer Veränderungen im Synapsin-1-Gen (*SYN1*), die beim Menschen mit Autismus-Spektrum-Störungen (ASD) und Epilepsien in Zusammenhang stehen. Hierfür soll ein neuronales Zellmodell auf der Grundlage von hES-Zellen etabliert werden, in denen ein konditionaler *knock out* des *SYN1*-Gens erfolgte. Die mutierten hES-Zellen sollen dabei in Neurone differenziert, die differenzierten Zellen optisch aktiviert und zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Aktivierung unter Nutzung der *flash and freeze*-Methode vitrifiziert werden. Durch die anschließende elektronenmikroskopische Untersuchung verschiedener Eigenschaften der Synapsen sollen neue Erkenntnisse über die Funktion von SYN-1 bei der Regulation von synaptischer Aktivität im Menschen gewonnen werden. Das Modellsystem soll zudem für die Testung ausgewählter Pharmaka eingesetzt werden, um deren möglichen Einfluss auf die Struktur und Aktivität der Synapsen zu bestimmen, was Anhaltspunkte über mögliche Wirkstoffe zur Behandlung der o. g. Erkrankungen erbringen könnte.

Die 107. Genehmigung nach dem StZG wurde am 10. März 2016 an Frau Professor Dr. Katja Schenke-Layland, Universitätsklinikum Tübingen, erteilt. Gegenstand der genehmigten Forschungsarbeiten ist die Untersuchung des Einflusses mechanischer und elektrischer Stimuli auf die Differenzierung von hES-Zellen zu reifen und funktionalen Herzzellen, die *in vitro* bislang nur unvollständig gelungen ist. Dabei soll die Differenzierung auf zuvor optimierten Trägermaterialien in einem multifunktionalen Bioreaktorsystem in Richtung von Kardiomyozyten erfolgen, wobei physikalische und elektrophysiologische Parameter variiert werden sollen, wie beispielsweise die mechanische Dehnung, der Medienfluss und das angelegte elektrische Feld. Die entstehenden kardialen Zellen sollen umfassend und im Vergleich mit primären menschlichen Kardiomyozyten charakterisiert und dabei bestimmt werden, ob und inwieweit die variierenden Bedingungen die Entstehung spezifischer Typen von Herzmuskelzellen (ventrikulär, atrial, nodal) beeinflussen. Die genehmigten Arbeiten sollen dazu beitragen, kardiale Differenzierungsprozesse im Menschen besser als bislang zu verstehen. Zudem sollen effiziente *In-vitro*-Differenzierungsprotokolle entwickelt werden, mit denen reife Herzmuskelzellen in großer Menge hergestellt werden könnten, wie sie für künftige therapeutische Zwecke, aber auch für die pharmakologisch-toxikologische Forschung benötigt werden.

Die 108. Genehmigung erging am 31. März 2016 an die Medizinische Hochschule Hannover. Die genehmigten Forschungsarbeiten sind auf die Entwicklung eines humanen Herzzell-Modells gerichtet, das zur Untersuchung der Induktion und Hemmung von kardialer (kardiomyozytärer) Hypertrophie genutzt werden kann. Dies ist von erheblicher Relevanz, da eine pathologische kardiale Hypertrophie eine der wesentlichsten Ursachen für Herzversagen und plötzlichen Herztod vor allem bei jüngeren Patienten ist. Zudem liegen dem pathologischen hypertrophen Wachstum vor allem ventrikulärer Kardiomyozyten komplexe Vorgänge zugrunde, die in ihrer Gesamtheit bislang nur unvollständig verstanden sind. Nach der Etablierung des auf hES-Zellen basierenden Herzzell-Modells soll daher untersucht werden, zu welchen molekularen und zellulären Veränderungen die Exposition der menschlichen Herzzellen gegenüber bekannten Hypertrophie-Stimuli führt. Ferner soll die Eignung dieses Zellmodells für die Detektion und Quantifizierung pro- und antihypertropher Effekte von Substanzen im Hochdurchsatzverfahren genutzt werden, wobei verschiedene Substanz-Bibliotheken hinsichtlich der Präsenz von Molekülen/Verbindungen untersucht werden sollen, die die kardiomyozytäre Hypertrophie befördern oder hemmen können. Zudem sollen Fragen zur Molekularbiologie von anti-hypertroph wirkenden Faktoren geklärt und die Wirkung potentieller anti-hypertropher Substanzen auf aus hES-Zellen gewonnenes artifizielles Herzgewebe verifiziert werden. Die genehmigten Forschungsarbeiten sollen zu einem tieferen Verständnis der molekularen und zellulären Ursachen kardialer Hypertrophie beitragen. Darüber hinaus könnten sie zur Identifizierung von neuen Wirkstoffen führen, auf deren Grundlage Medikamente zur Therapie des hypertrophen Herzens entwickelt werden könnten.

Zwei ebenfalls am 31. März 2016 erteilte Genehmigungen ergingen an die TWINCORE – Zentrum für Experimentelle und Klinische Infektionsforschung GmbH (109. und 110. Genehmigung nach dem StZG). Im Rahmen beider Forschungsvorhaben sollen auf der Grundlage humaner ES-Zellen zunächst Zellmodelle für virale Infektionen etabliert werden, die dann u. a. zur Untersuchung viraler Infektionsmechanismen, zur Analyse von Virus-Wirt-Wechselwirkungen und zur Entwicklung potentieller Wirkstoffe zur Behandlung von Virusinfektionen genutzt werden sollen.

Gegenstand der 109. Genehmigung ist die Entwicklung eines Leberzellmodells zur Untersuchung verschiedener Aspekte der Infektion mit Hepatitis-C-Virus (HCV), insbesondere der Wechselwirkungen des Virus mit dem zellulären Lipidstoffwechsel. Dabei soll beispielsweise analysiert werden, mit welchen zellulären Lipoproteinen HCV Wechselwirkungen eingeht und wie die Inkorporation bestimmter Lipide und Lipoproteine in das HCV-Kapsid die Bindung des Virus an Zelloberflächen-Rezeptoren sowie die Wirksamkeit von Antikörpern gegen HCV moduliert. Dies ist von erheblicher Relevanz: die Entwicklung eines dringend erforderlichen Impfstoffes gegen HCV wird u. a. durch die vielfältigen Mechanismen erschwert, mit denen HCV einer Immunantwort ausweichen kann (*immune escape*). Für diese Fähigkeit des Virus und besonders für seine geringe Sensitivität gegenüber neutralisierenden Antikörpern ist u. a. die Assoziation des Virus mit zellulären Lipoproteinen von maßgeblicher Bedeutung, was hier im Detail untersucht werden soll. Da die Gewinnung reifer und funktionsfähiger Hepatozyten aus pluripotenten Stammzellen nach wie vor mit erheblichen Problemen verbunden ist, sollen auch die entsprechenden Differenzierungsprotokolle optimiert und ggf. Leber-Organoide erzeugt werden, die auch auf ihre Eignung als Gewebemodell für eine HCV-Infektion hin getestet werden sollen. Die Entwicklung verbesserter hepatischer Differenzierungsmodelle ist angesichts der Bedeutung menschlicher Leberzellen für pharmakologisch-toxikologische Anwendungen und künftige therapeutische Zwecke ebenfalls von erheblicher Relevanz.

Die Forschungsarbeiten, deren Durchführung im Rahmen der 110. Genehmigung gestattet wurde, zielen auf die Etablierung eines Zellmodells für die Infektion mit humanem respiratorischem Synzytial-Virus (hRSV), das insbesondere für die Untersuchung früher Ereignisse der hRSV-Infektion sowie die Identifizierung potentieller Wirkstoffe gegen hRSV genutzt werden soll. Infektionen der unteren Atemwege mit hRSV können vor allem bei Patienten im Säuglings- und Kleinkindalter, aber auch bei älteren und immunsupprimierten Menschen, teils schwere Verläufe haben, wobei das Spektrum kausaler Therapiemöglichkeiten stark begrenzt ist. Im Rahmen der Forschungsarbeiten sollen hES-Zellen daher zu Lungenepithelzellen differenziert und u. a. der Zusammenhang zwischen der Permissivität von humanen Lungenepithelzellen für hRSV und der Aktivität bestimmter Gene ermittelt werden. Ferner soll überprüft werden, in welchem Maße in hES-Zell-abgeleiteten Lungenepithelzellen zu verschiedenen Zeitpunkten ihrer Differenzierung Gene für mutmaßliche hRSV-Rezeptoren exprimiert werden, ob die betreffenden Genprodukte im genutzten Zellmodell für die Bindung von hRSV an die Zelloberfläche relevant sind und welchen Effekt der *knock out* bzw. *knock down* der entsprechenden Gene auf die Permissivität der Zellen für hRSV hat. Auf diesem Wege sollen potentielle hRSV-Rezeptoren und in die hRSV-Infektion involvierte Moleküle und Signalübertragungswege identifiziert werden. Schließlich soll das Zellmodell auch genutzt werden, um Effekte antiviral wirksamer Medikamente auf zellulärer Ebene zu überprüfen und Substanzen mit vermuteter Wirkung gegen die hRSV-Infektion zu testen. Die Forschungsarbeiten sollen zu einem vertieften Verständnis der molekularen Grundlagen der hRSV-Infektion führen und ggf. dazu beitragen, Grundlagen für die Erforschung neuer antiviraler Wirkstoffe zu etablieren.

Die am 31. Mai 2016 erteilte 111. Genehmigung nach dem StZG erging an Herrn Dr. Micha Drukker, Helmholtz-Zentrum München. Gegenstand der genehmigten Forschungsarbeiten ist die Untersuchung von Funktionen der sog. Additional Sex Combs-like (ASXL)-Proteine während früher Differenzierungsprozesse menschlicher Zellen. Diese Gene sind an der durch *Polycomb Group* (PcG)- und *Trithorax Group* (TrxG)-Proteine vermittelten Etablierung einer aktivierenden bzw. reprimierenden Chromatin-Konfiguration beteiligt und spielen bei der Regulation der Genexpression in Entwicklungsprozessen offenbar eine erhebliche Rolle. Mutationen in *ASXL*-Genen gehen beim Menschen folglich mit teils schweren Erkrankungen sowie Entwicklungsstörungen einher. Die spezifischen Funktionen der ASXL-Proteine sowie die molekularen Konsequenzen ihres Funktionsverlustes, insbesondere für frühe Entwicklungsprozesse, sind bislang aber wenig verstanden. Die verschiedenen *ASXL*-Gene sollen daher in hES-Zellen sowohl mono- als auch biallelisch (konditionell) mutiert und die Folgen eines funktionellen *knockout* der verschiedenen *ASXL*-Gene auf die Differenzierung der betroffenen Zellen untersucht werden. Ziel ist die Identifizierung von Genen, deren Aktivität durch Produkte von *ASXL*-Genen reguliert wird bzw. die mit ASXL-Proteinen in Wechselwirkung stehen. Derartige Gene sollen dann in hES-Zellen funktionell ausgeschaltet und der Einfluss auf die Differenzierungsfähigkeit der hES-Zellen untersucht werden. Die Ergebnisse sollen auch mit den Resultaten verglichen werden, die unter Nutzung humaner induzierter pluripotenter Stammzellen aus Patienten erzielt werden, die unter durch ASXL-Mutationen bedingten Erkrankungen bzw. Entwicklungsstörungen leiden. Die Forschungsarbeiten können aller Voraussicht nach neue Erkenntnisse über die Rolle Chromatin-modifizierender Proteine in frühen Entwicklungsstadien und bei der molekularen Pathogenese entsprechender Erkrankungen des Menschen erbringen.

Inhaberin der ebenfalls am 31. Mai 2016 erteilten 112. Genehmigung nach dem StZG ist die Medizinische Hochschule Hannover. Die hier genehmigten Forschungsarbeiten zielen auf die Erarbeitung und Optimierung von Strategien für die stammzellbasierte Regeneration von Herzgewebe und deren Testung in verschiedenen Tiermodellen. Aufbauend auf in der Vergangenheit durchgeführten erfolgreichen Arbeiten, in deren Rahmen Protokolle für die Gewinnung großer Mengen kardialer Zellen aus pluripotenten Stammzellen des Menschen etabliert worden waren, sollen Methoden für die Herstellung transplantierbaren kardialen Gewebes optimiert und unterschiedliche Verfahren für die Transplantation der kardialen Zellen bzw. des kardialen Gewebes in verschiedene Tiermodelle des Myokard-Infarktes getestet werden. Aus hES-Zellen differenzierte kardiale Zellen sollen zum einen zur Herstellung von künstlichem Herzgewebe (*Bioartifical Cardiac Tissues*, BCT) verwendet, zum anderen zur Wiederbesiedlung zuvor dezellularisierter biologischer Matrizes und auf diesem Wege zur Gewinnung vaskularisierten kardialen Gewebes genutzt werden. Die kardialen Zellen sollen dann entweder als Zellsuspension oder in Form verschiedener *in vitro* konstruierter kardialer Gewebe in diverse Tiermodelle des Myokardinfarktes (Nager, Schwein, nicht-humane Primaten) transplantiert und die transplantierten Zellen/Gewebe u. a. hinsichtlich ihrer Integration in das Wirtsgewebe, bezüglich physiologischer Effekte und des Zellüberlebens sowie mit Blick auf eine Änderung der Zellzusammensetzung nach Transplantation sowie die weitere Reifung der Zellen *in vivo* analysiert werden. Die Arbeiten sollen ggf. auch unter Verwendung von humanen induzierten pluripotenten Stammzellen (hiPS-Zellen) durchgeführt werden. Die Arbeiten sollen dazu beitragen, konkrete Voraussetzungen für eine Gewebeersatztherapie beim Menschen zu schaffen, indem beispielsweise Fragen nach den am besten geeigneten Ausgangszellen oder nach der Eignung verschiedener Transplantate beantwortet werden.

Die am 12. Juli 2016 erteilte 113. Genehmigung nach dem StZG erging ebenfalls an die Medizinische Hochschule Hannover. Im Rahmen der genehmigten Forschungsarbeiten sollen Protokolle für die Differenzierung von hES-Zellen zu verschiedenen reifen Zelltypen der Lunge etabliert bzw. optimiert werden. Ziel ist es, funktionelles Lungengewebe *in vitro* herzustellen und dieses in Versuchstiere zu transplantieren. Zudem soll überprüft werden, ob derartiges Lungengewebe für die Etablierung von *In-vitro*-Testsystemen zur Beantwortung pharmakologisch-toxikologischer Fragestellungen genutzt werden kann. In einem ersten Projektteil sollen im Hochdurchsatzverfahren – unter Nutzung spezifischer und auf hES-Zellen basierender Reporter-Zell-Linien – zunächst niedermolekulare Substanzen identifiziert werden, die die Differenzierung humaner ES-Zellen in die Lungenzellen fördern und die Protokolle für eine pulmonale Differenzierung von hES-Zellen optimiert werden. In einem zweiten Projektteil soll dann ein Verfahren für die *In-vitro*-Herstellung möglichst reifen humanen Lungengewebes entwickelt werden. Dazu sollen pulmonale Vorläuferzellen, ggf. gemeinsam mit weiteren (ggf. aus hES-Zellen gewonnenen) Zelltypen in dezellularisiertes (humanes) Lungengewebe eingebracht und die weitere Reifung der Lungenepithelzellen analysiert werden. In einem dritten Projektteil soll geklärt werden, ob sich das auf diesem Wege gewonnene pulmonale Gewebe für die Nutzung in pharmakologisch-toxikologischen Screening-Verfahren eignet, wobei das Lungengewebe toxischen bzw. pharmakologisch aktiven Substanzen ausgesetzt und geeignete Endpunkte für die Bestimmung insbesondere von Lungenzelltoxizität ermittelt werden sollen. In einem vierten Projektteil schließlich soll das *in vitro* gewonnene Lungengewebe unter die Nierenkapsel von Mäusen bzw. intratracheal transplantiert und die weitere Reifung der Lungenzellen *in vivo* analysiert werden. Die Untersuchungen sollen auch im Vergleich mit hiPS-Zellen erfolgen. Das Forschungsvorhaben zielt insgesamt auf ein besseres Verständnis der Lungenzelldifferenzierung beim Menschen. Derzeit ist weitgehend ungeklärt, auf welche Weise, zu welchem Zeitpunkt und mit welchen Faktoren insbesondere die Spezifizierung von Zellen erfolgen muss, um eine effiziente Gewinnung von Lungen(Vorläufer)Zellen zu ermöglichen. Die Forschungsarbeiten können auch dazu beitragen, dringend erforderliche humane pulmonale Zellmodelle für die Umwelt- und Arzneimittelforschung zu entwickeln sowie Grundlagen für künftige zellbasierte Therapien zu schaffen.

Die 114. Genehmigung nach dem StZG erging am 27. Oktober 2016 an Herrn Professor Dr. Michael Schäfer, Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz. Der Schwerpunkt der Forschungsarbeiten liegt hier auf der Untersuchung der Funktionen des Zelladhäsions- und Zellerkennungsmoleküls L1. Das X-chromosomal codierte *L1*-Genprodukt hat u. a. Funktionen im intrazellulären Transport, bei der Migration von Neuronen, bei der axonalen Wegfindung, beim Auswachsen der Neurite und der Wechselwirkung von Neuronen und Gliazellen. Zudem steht L1 offenbar auch mit degenerativen Prozessen im Zentralnervensystem in Zusammenhang. Ein funktionaler *knockout* von L1 ist beim Menschen mit schwerwiegenden Entwicklungsdefekten verbunden, die als L1-Syndrom zusammengefasst werden. Zur Untersuchung der molekularen Konsequenzen verschiedener L1-Mutationen sollen in einem ersten Projektteil entsprechende Mutationen im *L1*-Gen von hES-Zellen erzeugt, die Effekte der jeweiligen Mutation auf die Funktionen von L1 bestimmt und so die Pathogenität von spezifischen *L1*-Genvarianten bewertet werden. In einem zweiten Projektteil soll ermittelt werden, ob und

inwieweit das *L1*-Genprodukt in neurodegenerative Prozesse involviert ist. Dazu sollen Wildtyp- und L1-defiziente hES-Zell-abgeleitete Neurone mit aktivierten T-Lymphozyten kokultiviert und bestimmt werden, wie die Genexpressionsmuster auf der Ebene des Transkriptoms und (Phospho)Proteoms durch die Ab- bzw. Anwesenheit von L1 moduliert werden. In einem dritten Teilprojekt soll schließlich ein *In-vitro*-Modell entwickelt werden, an dem die Rolle von L1 für die Integrität und das Überleben von Neuronen unter ischämischen Bedingungen untersucht werden kann, wie sie beispielsweise infolge eines Schlaganfalls oder Schädel-Hirn-Traumas vorliegen. Hierfür sollen hES-Zell-abgeleitete Wildtyp- oder L1-defiziente Neurone unter hypoxischen Bedingungen kultiviert und nach Stimulation durch pro-inflammatorische Mediatoren umfassend charakterisiert werden. Aus den Ergebnissen der genehmigten Arbeiten lassen sich aller Voraussicht nach wesentliche Erkenntnisse über die Funktion von L1 während neuraler Entwicklungsprozesse sowie darüber gewinnen, inwieweit Zelladhäsionsmoleküle Schutzfunktionen bzw. eine Rolle bei Regenerationsvorgängen im Nervensystem innehaben. Darüber hinaus sollen molekulare Grundlagen entwicklungsabhängiger Defizite aufgeklärt werden, die mit dem L1-Syndrom assoziiert sind.

Die 115. Genehmigung nach dem StZG wurde, ebenfalls am 27. Oktober 2016, an Herrn Professor Dr. Wieland Huttner, Max-Planck-Institut für Molekulare Zellbiologie und Genetik, Dresden, erteilt. Am selben Tag erging die mit der 115. Genehmigung inhaltsgleiche 116. Genehmigung nach dem StZG and Herrn Prof. Dr. Svante Pääbo, Max-Planck-Institut für Evolutionäre Anthropologie, Leipzig. Ziel dieses gemeinschaftlichen Forschungsvorhabens ist es, die molekularen Grundlagen für jene entwicklungsbiologischen und funktionellen Veränderungen zu identifizieren, die im Laufe der menschlichen Evolution zur Genese des menschlichen Gehirns geführt und dadurch die neurobiologischen Grundlagen für die spezifischen kognitiven Fähigkeiten des Menschen gelegt haben. Dabei soll, unter Nutzung hES-Zell-abgeleiteter zerebraler Organoide, insbesondere die Rolle humanspezifischer Gene bei der Entwicklung zerebraler Strukturen aufgeklärt werden. Im Rahmen der Forschungsarbeiten sollen in hES-Zellen zunächst Gene für Transkriptionsfaktoren mit Relevanz für frühe neurale Differenzierungsprozesse bzw. an sie grenzende (potentiell regulatorische) genomische Elemente ausgeschaltet und überprüft werden, ob und wenn ja welche Defizite bei der anschließenden Entwicklung zerebraler Organoide aus den so veränderten Zellen bestehen. Ferner sollen die Konsequenzen eines *knockout* von Genen untersucht werden, die humanspezifisch sind (also keine Äquivalente im Mausgenom haben) und denen eine Schlüsselrolle bei der Entwicklung u. a. des menschlichen Gehirns zugeschrieben wird. Dazu sollen die entsprechenden Gene in hES-Zellen funktional deletiert und aus den genetisch veränderten hES-Zellen gewonnene zerebrale Organoide umfassend charakterisiert werden, wobei insbesondere die Zusammensetzung der kortikalen Vorläuferzell-Populationen, ihre Proliferation sowie ihr Transkriptionsmuster von Interesse sind. Schließlich sollen Gene, deren Produkte (potentielle) Relevanz für die Genese des menschlichen Kortex haben, in hES-Zellen so verändert werden, dass ihre Sequenz jener der entsprechenden Gene des Neandertalers (*Homo neanderthalensis*) entspricht. Die so „neandertalisierten“ hES-Zellen sollen dann zur Herstellung zerebraler Organoide genutzt und diese mit aus Wildtyp-hES-Zellen gewonnenen zerebralen Organoiden auf mögliche Unterschiede in der Morphologie sowie in der Zusammensetzung, in der Proliferation und im Transkriptom kortikaler neuraler (Vorläufer)Zellpopulationen verglichen werden. Darüber hinaus sollen auch Gene, deren Produkte potentielle Relevanz für die Genese des Kortex haben und die im (anatomisch) modernen Menschen (*Homo sapiens*) und im Neandertaler identisch sind, so verändert werden, dass ihre Sequenz jener der entsprechenden Gene in Primaten (und ggf. anderen Säugertieren) entspricht und die Auswirkungen dieser genetischen Veränderungen auf die Bildung und auf die Eigenschaften der entsprechenden zerebralen Organoide bestimmt werden. Die Forschungsarbeiten werden voraussichtlich einen wichtigen Beitrag zum Verständnis der zellbiologischen und genetischen Vorgänge leisten können, die während der Entwicklungsgeschichte des Menschen zu neuen Funktionen des menschlichen Gehirns und, damit verbunden, zu den für den Menschen charakteristischen kognitiven und sozialen Fähigkeiten führten. Zudem sind auch neue Erkenntnisse in Bezug auf Krankheiten denkbar, die diese Fähigkeiten beeinträchtigen.

Die 117. Genehmigung nach dem StZG erging am 1. Dezember 2016 an die Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. Die genehmigten Forschungsarbeiten sollen zu einem besseren Verständnis von Prozessen beitragen, die auf molekularer und zellulärer Ebene bei der Entstehung psychiatrischer Erkrankungen ablaufen. Hierfür sollen in hES-Zellen Mutationen erzeugt werden, die (potentiell) mit psychiatrischen Erkrankungen wie Schizophrenie und Autismus-Spektrum-Erkrankungen assoziiert sind. Die mutierten hES-Zellen sollen in verschiedene Typen neuraler Zellen differenziert und diese – im Vergleich mit aus Wildtyp-hES-Zellen differenzierten neuralen Zellen – umfassend auf den Ebenen des Transkriptoms, des Epigenoms und des (Phospho)Proteoms sowie in Bezug auf ihre morphologischen, biochemischen, elektrophysiologischen und pharmakologischen Eigenschaften charakterisiert werden. Zudem soll die Entstehung krankheitsspezifischer Phänotypen auch auf dem Wege einer pharmakologischen Stimulation hES-Zell-abgeleiteter Neurone unterstützt werden.

Schließlich sollen aus hES-Zellen differenzierte Neurone in Nager transplantiert und die Zellen zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Transplantation umfassend charakterisiert werden. Die Versuche sollen vergleichend auch mit (krankheitsspezifischen) hiPS-Zellen durchgeführt werden. Die Forschungsarbeiten können aller Voraussicht zu einem vertieften Verständnis davon beitragen, auf welche Weise genetische Risikofaktoren die Entstehung und Entwicklung psychiatrischer Erkrankungen auf zellulärer Ebene beeinflussen, in welchen Typen neuraler Zellen die Mutation bestimmter Gene zu phänotypischen Änderungen führt und welche konkreten (beispielsweise funktionalen) Veränderungen in den jeweils betroffenen neuralen Zellen infolge bestimmter Mutationen auftreten.

Die 118. Genehmigung nach dem StZG wurde am 28. Februar 2017 an Herrn Prof. Dr. Markus Riemenschneider, Universitätsklinikum Regensburg, erteilt. Im Rahmen der genehmigten Forschungsarbeiten sollen hES-Zellen als Referenzmaterial für die Untersuchung ausgewählter Eigenschaften von hiPS-Zellen genutzt werden, die aus Hautproben idiopathischer Parkinson-Patienten gewonnen wurden. Dabei soll geklärt werden, ob und inwieweit hiPS-Zellen ein die Reprogrammierung überdauerndes epigenetisches Gedächtnis aufweisen, das eine therapeutische Verwendung der aus den Patienten gewonnenen hiPS-Zellen einschränken würde. hES- und hiPS-Zellen, aber auch die zur Gewinnung der hiPS-Zellen genutzten somatischen Zellen, sollen daher auf der Ebene des Transkriptoms sowie hinsichtlich verschiedener epigenetischer Eigenschaften miteinander verglichen und auf diesem Wege möglicherweise bestehende reprogrammierungsbedingte Veränderungen in hiPS-Zellen identifiziert werden. Aus den Ergebnissen der Arbeiten können sich ggf. neue Erkenntnisse darüber ergeben, ob sich hiPS-Zellen von Patienten mit idiopathischem Parkinson-Syndrom als Ausgangsmaterial für Zellprodukte für die Therapie der Parkinson-Erkrankung eignen könnten.

Die ebenfalls am 28. Februar 2017 erteilte 119. Genehmigung nach dem StZG erging an das Max-Planck-Institut für molekulare Biomedizin, Münster. Die genehmigten Forschungsarbeiten zielen auf die Klärung der Frage, ob somatische Zellen des Menschen im Rahmen eines dreidimensionalen Gewebeverbandes zu anderen Zelltypen transdifferenziert werden können, ohne dass dieser Prozess über ein pluripotentes Zellstadium verläuft. Konkret soll insbesondere geklärt werden, ob durch viralen Transfer der Gene für Reprogrammierungsfaktoren eine Umwandlung von nicht-neuronalen Zellen in neurale Vorläuferzellen möglich ist. Als Zwischenprodukt der angestrebten partiellen *In-vivo*-Reprogrammierung sollen sog. *Master*-Zellen erzeugt werden, die ein Intermediat zwischen pluripotenten Stammzellen und neuralen Vorläuferzellen darstellen und von denen erwartet wird, dass sie sich in der Nische des Gehirn-Organoids spontan zu neuralen Vorläuferzellen weiterentwickeln. Darüber hinaus soll getestet werden, ob und inwieweit die angestrebte Transdifferenzierung allein durch Zusatz (zuvor identifizierter) kleiner Moleküle (*small molecules*) erreicht werden kann und ob sich hES-Zellen und hiPS-Zellen in gleicher Weise für die Herstellung von Gehirn-Organoiden und damit für die Klärung der weiteren Fragestellungen des Forschungsprojektes eignen. Obwohl die genehmigten Forschungsarbeiten vor allem auf die Erbringung eines *proof of concept* in einem relevanten menschlichen Organoid-System zielen, sollen auf diesem Wege letztlich Grundlagen für mittelfristig denkbare Verfahren geschaffen werden, mittels derer eine *In-vivo*-Regeneration verletzter, erkrankter und/oder gealterter Gewebe angestoßen werden kann, die oft eine nur geringe Anzahl von Vorläuferzellen aufweisen und daher über eine nur eingeschränkte Regenerationsfähigkeit verfügen. Insofern können die Arbeiten einen Beitrag zur Entwicklung neuer Therapiekonzepte zur Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen leisten, wie z. B. der Amyotrophen Lateralsklerose, der Parkinson-Krankheit oder der Huntington-Krankheit

Die 120. Genehmigung nach dem StZG wurde ebenfalls am 28. Februar 2017 erteilt und erging an das Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC), Berlin. Gegenstand der genehmigten Forschungsarbeiten ist die Untersuchung früher molekularer und zellulärer Prozesse, die bei der Entwicklung des humanen neuromuskulären Systems ablaufen. Dabei richtet sich das Interesse auf eine bestimmte Population bipotenter neuromesodermaler Vorläuferzellen (NMP-Zellen), die sich sowohl zu Nervenzellen als auch zu mesodermalen (Muskel-)Zellen entwickeln können. Da die Biologie dieser Zellen nur unzureichend verstanden ist, sollen hES-Zellen zu NMP-Zellen differenziert und die Signalwege und Faktoren bestimmt werden, die für die Identität und für die weiteren Differenzierungsentscheidungen von NMP-Zellen erheblich sind. Ferner soll ein *In-vitro*-Modell für die frühe Rückenmarkentwicklung beim Menschen etabliert werden, indem aus hES-Zellen abgeleitete NMP-Zellen in eine geeignete Matrix eingebracht, die Selbstorganisation der NMP-Zellen zu einem (frühen) Rückenmark-Organoid angestoßen und die Bedingungen der Organoidbildung schließlich optimiert werden sollen. Ein derartiges Modell kann dazu beitragen, frühe Prozesse insbesondere der Entwicklung posteriorer Strukturen im frühen menschlichen Embryo (Schwanzknospenbildung) nachzubilden, die extrinsischen Voraussetzungen für diese Differenzierungsprozesse zu bestimmen und dadurch Erkenntnisse mit Relevanz für entwicklungsbiologische Fragestellungen zu gewinnen. In einem zweiten Projektteil sollen die Bedingungen untersucht und optimiert werden, unter denen sich NMP-Zellen spezifisch zu spinalen Motoneuronen unterschiedlicher Identität entwickeln können, wobei insbesondere die Rolle der sog. *HOX*-Gene für die Differenzierung

zu brachialen, thorakalen oder lumbalen Motoneuronen entschlüsselt und an der Differenzierung beteiligte Signalwege identifiziert werden sollen. Die Arbeiten können zum Verständnis früher Prozesse der menschlichen Embryonalentwicklung auf zellulärer Ebene beitragen und zudem Grundlagen für die Entwicklung von neuen Therapien bei Rückenmarkverletzungen und degenerativen Erkrankungen schaffen helfen.

Die 121. und 122. Genehmigung nach dem StZG sind inhaltsgleich und wurden am 25. April 2017 an Frau Prof. Dr. Beate Winner, Universitätsklinikum Erlangen, und Herrn Prof. Dr. Dieter C. Lie, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, erteilt. Die Arbeiten zielen auf die Identifizierung möglicher gemeinsamer molekularer Grundlagen von neuralen Entwicklungsstörungen, die zwar mit Mutationen in verschiedenen Genen assoziiert, jedoch in ihrer jeweiligen phänotypischen Ausprägung ähnlich sind. Der Fokus ist dabei auf das Coffin-Siris-Syndrom (CSS), das Nicolaides–Baraitser-Syndrom (NBS) sowie auf das Pitt-Hopkins-Syndrom (PHS) gerichtet, die mit erheblicher mentaler Retardierung einhergehen. Nach gezielter funktionaler Ausschaltung bzw. spezifischer Mutagenese der jeweiligen krankheitsassoziierten Gene sollen die Auswirkungen der Gendefekte auf die neuronale Differenzierung der Zellen, auf die Eigenschaften hES-Zell-abgeleiteter Nervenzellen sowie auf die Entwicklung und Charakteristika neuraler Organoide jeweils detailliert untersucht werden. Dabei sollen neben Zellproliferation, Vitalität und Differenzierungsverhalten beispielsweise auch das Migrationsverhalten der Zellen und die Fähigkeit zur Ausbildung funktional aktiver neuronaler Netzwerke analysiert werden, woraus Rückschlüsse auf mögliche Defizite und Störungen der neuralen Plastizität gezogen werden sollen. Ferner sollen Veränderungen im Transkriptom, in den Wechselwirkungen der Genprodukte der mutierten Gene mit anderen Proteinen und in der Zusammensetzung und Aktivität von Chromatin-modellierenden Komplexen und in Netzwerken von Transkriptionsfaktoren bestimmt sowie die Beteiligung von Signalkaskaden und regulatorischen Netzwerken an der Ausprägung des veränderten neuronalen Phänotyps detailliert untersucht werden. Die Forschungsarbeiten sollen dazu beitragen, die molekularen und zellulären Grundlagen mentaler Retardierungssyndrome verschiedener genetischer Ätiologie besser als bislang zu verstehen.

Inhaberin der ebenfalls am 25. April 2017 erteilten 123. Genehmigung nach dem StZG ist Frau PD Dr. Insa Schröder, GSI Helmholtzzentrum für Schwerionenforschung GmbH, Darmstadt. Die genehmigten Forschungsarbeiten zielen auf die Etablierung eines humanen *In-vitro*-Systems, an dem die zellulären und molekularen Grundlagen der Schädigung von Zellen des menschlichen Zentralnervensystems (ZNS) durch ionisierende Strahlung und Chemotherapeutika untersucht werden können. Schädigungen des Nervensystems und damit verbundene Langzeitschäden sind ein maßgebliches Problem des Einsatzes von ionisierender Strahlung und Chemotherapeutika zur Therapie von Hirntumoren, insbesondere bei Kindern und Jugendlichen. Die Bestrahlung des ZNS mit für die Strahlentherapie erforderlichen Dosen kann ggf. zu einer progressiven Verschlechterung der kognitiven Fähigkeiten führen. Ziel der genehmigten Forschungsarbeiten ist es, durch die Untersuchung des Einflusses von ionisierender Strahlung und von Chemotherapeutika auf menschliche Neurone *in vitro* ein besseres Verständnis von den unmittelbaren Auswirkungen dieser Noxen auf die molekularen und funktionalen Eigenschaften humaner neuraler Zellen zu erlangen. Im Rahmen der Forschungsarbeiten sollen hES-Zellen daher zunächst in verschiedene Typen neuronaler und glialer Zellen, in Zellen der Mikroglia sowie in neurale Organoide differenziert und dabei nach Möglichkeit auch ein Protokoll für die Gewinnung neuraler Vorläuferzellen eines möglichst adulten Phänotyps etabliert werden. Die verschiedenen Zelltypen des ZNS sowie die zerebralen Organoide sollen dann bezüglich potentieller toxischer Effekte von ionisierender Strahlung, von Chemo- und Immuntherapeutika, von in der Tumortherapie genutzten Antikonvulsiva sowie von Nanopartikeln untersucht werden. Auf Basis dieser Untersuchungen sollen die Grundlagen für ein *In-vitro*-System zur Vorhersage und Bewertung von Schädigungen durch Strahlung und Chemotherapeutika geschaffen und ein besseres Verständnis von den molekularen und zellulären Mechanismen erlangt werden, die den neurotoxischen Effekten ionisierender Strahlung in Kombination mit Medikamenten zugrunde liegen.

Die 124. Genehmigung nach dem StZG wurde am 23. Mai 2017 erteilt und erging an das Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München. Hintergrund des Forschungsvorhabens sind Befunde, nach denen eine insbesondere durch Stress vermittelte Ausschüttung von Glukokortikoiden zu Veränderungen in der Neurogenese bzw. in den Eigenschaften neuronaler Zellen des Zentralnervensystems führt und auf diesem Wege die Entwicklung psychiatrischer Erkrankungen verursachen bzw. begünstigen kann. Konkreter Gegenstand der genehmigten Forschungsarbeiten ist daher die Untersuchung des Einflusses von Glukokortikoiden auf die Entwicklung und Eigenschaften humaner neuronaler Zellen und neuraler Organoide *in vitro*. Dazu sollen hES-Zellen nach weitgehend etablierten Vorgehensweisen in neuronale Zellen sowie zu Gehirn-Organoiden differenziert und die Integrität der entstandenen Zellen/Organoide durch umfangreiche Analysen bestätigt werden. Im Folgenden sollen diese Untersuchungen dann in Präsenz von Glukokortikoiden erfolgen und mögliche Veränderungen in den differenzierten bzw. sich differenzierenden Zellen bestimmt werden. Neben Effekten auf Proliferation, Überlebensrate, Migration und Dendritenbildung soll insbesondere der Einfluss von Glukokortikoiden auf das Transkriptom und das Epigenom der jeweiligen neuronalen (Vorläufer)Zellen bestimmt werden. Zudem soll

untersucht werden, ob es infolge der Wirkung von Glukokortikoiden zu Veränderungen im DNA-Bindungs-Spektrum des Glukokortikoidrezeptors kommt. Aus den Ergebnissen der Arbeiten sollen sich neue Erkenntnisse darüber ergeben, welche Veränderungen in der neuronalen Entwicklung durch erhöhte Glukokortikoid-Konzentrationen auf zellulärer und molekularer Ebene verursacht werden. Da Glukokortikoide ein wesentliches Stresshormon sind, können die angestrebten Erkenntnisse ggf. auch zu einem vertieften Verständnis der Rolle von Stress als Risikofaktor für psychiatrische Erkrankungen beitragen.

Inhaber der am 10. August 2017 erteilten 125. Genehmigung nach dem StZG ist das Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC), Berlin. Ziel der genehmigten Forschungsarbeiten ist es, eine mögliche Funktion des humanen endogenen Retrovirus H (HERV-H) für die Aufrechterhaltung der Pluripotenz humaner embryonaler Stammzellen zu entschlüsseln. Dazu soll zunächst die Funktion der Produkte von bestimmten Genen, die bei An- und Abwesenheit von HERV-H in pluripotenten Stammzellen des Menschen unterschiedlich exprimiert werden, für die Aufrechterhaltung der Pluripotenz menschlicher Zellen bestimmt werden. Die entsprechenden Gene sollen in hES-Zellen überexprimiert bzw. ihre Expression vermindert oder ausgeschaltet und die jeweiligen Effekte auf die Eigenschaften von hES-Zellen bestimmt werden. Zudem sollen Wechselwirkungspartner der entsprechenden Genprodukte in hES-Zellen identifiziert sowie ihre Eigenschaften, beispielsweise die Funktion für den Metabolismus humaner ES-Zellen, im Hochdurchsatzverfahren untersucht werden. Ferner soll geklärt werden, welche konkreten Funktionen die Transkriptionsfaktoren LBP9 und TFCP2 bei der Aufrechterhaltung naiver (ursprünglicher) bzw. geprägter (*primed*) Pluripotenz menschlicher Stammzellen haben und welche molekularen Mechanismen diesen Funktionen zugrunde liegen. Aus den genehmigten Forschungsarbeiten können sich ggf. neue Erkenntnisse über Moleküle, Signalwege und Prozesse ergeben, die an der Regulation der Pluripotenz menschlicher Stammzellen beteiligt sind.

Die 126. Genehmigung nach dem StZG erging ebenfalls am 10. August 2017. Genehmigungsinhaber ist das Max-Planck-Institut für molekulare Biomedizin, Münster. Die Forschungsarbeiten zielen auf die Etablierung optimierter Vorgehensweisen für die Gewinnung humaner männlicher Keimzellen aus pluripotenten Stammzellen. Dabei sollen zunächst die Vorgehensweisen für die Differenzierung in Keimzellen optimiert und die Funktionen bestimmter Genprodukte für Prozesse der Keimzelldifferenzierung untersucht werden. Daran anschließend sollen hES-Zellen in indifferente, zu primordialen Keimzellen ähnliche Zellen (*premordial germ cell like cells*, PGCLC) differenziert und anschließend einer (xenogenen) Nagetier-Hodenumgebung ausgesetzt werden, in der eine Organoidbildung und die weitere Differenzierung der PGCLC in Richtung männlicher Keimzellen erwartet wird. Zudem sollen Vorgehensweisen für eine direkte Differenzierung von hES-Zellen in spermatogoniale Stammzellen (SSC) etabliert werden. Schließlich soll ein Organoid-Modell etabliert werden, an dem die Funktionen von Gonadenzellen für die Keimzellentwicklung untersucht und ggf. eine Reifung der Keimzellen erreicht werden kann. Der Schwerpunkt liegt hierbei zunächst auf der Entwicklung geeigneter Vorgehensweisen für die Gewinnung von Sertoli-und Leydig-Zellen aus Zellen des intermediären Mesoderms, die gemeinsam mit sich entwickelnden PGCLC kultiviert werden sollen. In diesem Organoidmodell soll dann die erwartete weitere Keimzellentwicklung untersucht werden. Die Arbeiten, die im Vergleich zwischen hES-Zellen und hiPS-Zellen durchgeführt werden sollen, können aller Voraussicht nach einen Beitrag zur Aufklärung von molekularen und zellbiologischen Grundlagen der Entwicklung und Spezifizierung männlicher Keimzellen leisten. In der längerfristigen Perspektive können die erwarteten Erkenntnisse auch für die Schaffung von Grundlagen für neue Therapien zur Behandlung der männlichen Unfruchtbarkeit relevant sein.

Im Rahmen der 127. Genehmigung nach dem StZG, die gleichfalls am 10. August 2017 an Frau Dr. Sabina Tahirovic, Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen, München, erging, sollen entzündliche Prozesse untersucht werden, die auf molekularer und zellulärer Ebene bei der Entstehung neurodegenerativer Erkrankungen ablaufen, insbesondere bei Morbus Alzheimer. Dabei soll die Funktion von Genen untersucht werden, deren Produkte für die Funktion von Monozyten und Mikroglia im Zentralnervensystem relevant sind. Grundlage hierfür soll die Etablierung eines *In-vitro*-Testsystems sein, in dem u. a. aus hES-Zellen abgeleitete Mikroglia-Zellen mit Hirnschnitten aus Mausmodellen für Morbus Alzheimer konfrontiert und der Abbau von β-Amyloid-Plaques (Aβ-Plaques) verfolgt werden kann. Dabei sollen auch die Effekte von Mutationen in Genen analysiert werden, die für die Funktionalität von Monozyten und Mikroglia-Zellen beim Abbau von Aβ-Plaques essentiell sind. Dazu sollen die entsprechenden Gene in hES-Zellen mutiert bzw. funktional deletiert, die hES-Zellen in Monozyten und Mikroglia-Zellen differenziert und die differenzierten Zellen dann umfassend untersucht werden. Die Untersuchungen sollen auch im Vergleich mit hiPS-Zellen erfolgen, die aus Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen und Mutationen in entsprechenden Genen gewonnen werden. Diese Forschungsarbeiten können zu neuen Erkenntnissen über die molekularen Prozesse führen, die der veränderten Funktion von Mikroglia und Monozyten bei neurodegenerativen Erkrankungen zugrundeliegen.

Die 128. Genehmigung nach dem StZG wurde am 5. September 2017 an Frau Dr. Michelle Vincendeau, Helmholtz Zentrum München GmbH, erteilt. Der Schwerpunkt der genehmigten Forschungsarbeiten liegt auf der Untersuchung möglicher Funktionen von ins humane Genom integrierten Retrotransposons sowie der Rolle der von diesen codierten Genprodukten insbesondere bei der neuralen Differenzierung menschlicher Zellen. Aus Retroviren stammende transponierbare Elemente haben bei der Entwicklung des Säugetiergenoms eine erhebliche Rolle gespielt und stellen beispielsweise Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren dar. Die Frage danach, in welchem Maße sie zur Entwicklung neuer und *in trans* wirkender Faktoren (z. B. Transkriptionsfaktoren, regulatorische RNAs, epigenetische Regulatoren) beigetragen haben und dadurch in die Regulation von Entwicklungs- und Differenzierungsprozesse involviert sind, ist aber bislang nur unvollständig verstanden. Im Rahmen der genehmigten Forschungsarbeiten soll daher zunächst untersucht werden, ob und inwieweit sich die Expression der Retrotransposons während der neuralen Differenzierung humaner ES-Zellen verändert. Nach spezifischer Hemmung bzw. Aktivierung der Expression der Retrotransposons in hES-Zellen sollen die Effekte der Retrotransposons auf das Transkriptom und Epigenom sich neural differenzierender hES-Zellen bzw. neuraler Organoide bestimmt werden. Ferner sollen die Funktionen von Retrotransposons, von durch Retrotransposons regulierten zellulären Genen sowie von Genen untersucht werden, die ihrerseits Retrotransposons regulieren. Die entsprechenden Gene sollen in hES-Zellen überexprimiert, mutiert oder ausgeschaltet und die Effekte auf die Eigenschaften der aus den entsprechenden hES-Zellen differenzierten neuralen Zellen jeweils bestimmt werden. Die Forschungsarbeiten, die auch im Vergleich mit hiPS-Zellen durchgeführt werden, sollen zum Verständnis der Rolle von Retrotransposons während der neuralen Differenzierung beitragen und klären helfen, ob und auf welche Weise im menschlichen Genom befindliche Retrotransposons die neurale Differenzierung menschlicher Zellen modulieren oder ggf. steuern können.

Die 129. Genehmigung nach dem StZG erging am 24. Oktober 2017 an Herrn Dr. Boris Greber, Max-Planck-Institut für molekulare Biomedizin, Münster. Der Inhalt der Genehmigung ist mit jenem der 37. und 52. Genehmigung nach dem StZG identisch. Hintergrund der Genehmigungserteilung ist, dass der Genehmigungsinhaber die Arbeiten unter Verwendung von hES-Zellen, die er bislang am Max-Planck-Institut für molekulare Biomedizin, Münster, durchgeführt hat, in Teilen künftig an einer anderen Institution durchführen wird, was aus formalen Gründen eine erneute Genehmigung erforderte. Die Arbeiten werden auch weiterhin beim ursprünglichen Genehmigungsinhaber fortgeführt.

Die 130. Genehmigung nach dem StZG erging am 2. November 2017 an das Universitätsklinikum Essen. Die Forschungsarbeiten zielen auf die Aufklärung der molekularen Grundlagen der Differenzierung von hES-Zellen zu Stammzellen des Corneaepithels und des retinalen Pigmentepithels sowie daraus abgeleiteter epithelialer Zellen. Hintergrund ist die Tatsache, dass die Schädigung bzw. der Funktionsverlust der genannten Zellen wesentliche Ursachen für Erblindung sind und adäquate Therapien derzeit nur sehr eingeschränkt zur Verfügung stehen. Das Verständnis von den Grundlagen der Entstehung dieser Zellen und die damit verbundene Möglichkeit zur Entwicklung verbesserter Protokolle zu ihrer Gewinnung *in vitro* könnten daher künftig für die Entwicklung regenerativer Therapien bedeutsam sein. Die Forschungsarbeiten richten sich auf die Bestimmung der konkreten Funktionen von Transkriptionsfaktoren, die in die Differenzierungsprozesse involviert sind, sowie auf die Identifizierung und nähere Charakterisierung weiterer Gene, deren Produkte ggf. an Differenzierungsprozessen bei der Entstehung retinaler und cornealer Zellen beteiligt sind. Darüber hinaus sollen intrazelluläre Prozesse (wie beispielswiese Signaltransduktionskaskaden) identifiziert werden, an denen die Produkte dieser Gene beteiligt sind, und überprüft werden, ob die Modulation dieser Prozesse, beispielsweise durch Wachstumsfaktoren oder sog. kleine Moleküle, ggf. zu einem veränderten Differenzierungsverhalten führt. Das Vorhaben soll einen Beitrag zur Aufklärung von Molekülen und Signalwegen leisten, die für die Differenzierung von humanen pluripotenten Stammzellen zu Zellen des Corneaepithels und des retinalen Pigmentepithels erheblich sind.

Inhaber der ebenfalls am 2. November 2017 erteilten 131. Genehmigung nach dem StZG ist das Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München. Die hier genehmigten Forschungsarbeiten zielen auf neue Erkenntnisse über die frühe Herzzellentwicklung beim Menschen und – damit in Zusammenhang stehend – auf ein besseres Verständnis von den Ursachen angeborener Herzfehler. Dazu sollen Funktionen genregulatorischer Elemente während früher Stadien der kardiovaskulären Differenzierung beim Menschen aufgeklärt, frühe Vorläuferzellen des Herzens identifiziert bzw. besser als bislang charakterisiert und an der Herzzellentwicklung beteiligte Genprodukte und Signalwege bestimmt bzw. im Detail analysiert werden. Ferner sollen sog. Super-Enhancer, die die weitere Entwicklung dieser Zellen maßgeblich steuern, in frühen kardialen Vorläuferzellen lokalisiert und ihre spezifischen Funktionen während der kardiovaskulären Differenzierung aufgeklärt werden. Aus den genannten Untersuchungen lassen sich voraussichtlich vor allem Erkenntnisse über genregulatorische Netzwerke gewinnen, die während der humanen Kardiogenese aktiv sind. Zudem sollen die Ergebnisse auch

zum Verständnis von den molekularen Ursachen angeborener Herzfehlbildungen beitragen, da derartige Erkrankungen teils durch Veränderungen im nicht-codierenden Genom bedingt sein können.

Gegenstand der am 12. Dezember 2017 Herrn Prof. Dr. James Adjaye, Universitätsklinikum Düsseldorf, erteilten 132. Genehmigung nach dem StZG ist die Klärung der Frage, ob aus pluripotenten Stamzellen des Menschen gewonnene mesenchymale Stammzellen (MSC) zur Therapie des Crigler-Najjar-Syndrom Typ 1 (CN1) geeignet sind. CN1 ist eine angeborene Störung im Stoffwechsel von Bilirubin, für die bislang keine effiziente Therapie zur Verfügung steht. Dazu sollen hES-Zellen zu MSC differenziert und diese in partiell hepatektomierte Gunn-Ratten transplantiert werden, die ein gut charakterisiertes Tiermodell für CN1 darstellen. Dabei soll überprüft werden, ob und inwieweit aus hES-Zellen abgeleitete MSC das Potential haben, den CN1-Phänotyp zu reversieren oder zu mildern, und ggf. die Grundlagen eines therapeutischen Effektes bestimmt werden. Die Arbeiten sollen vergleichend mit MSC durchgeführt werden, die aus hiPS-Zellen abgeleitet wurden, um einschätzen zu können, ob hES- und hiPS-Zellen ein identisches Potential zur Differenzierung in funktional gleichwertige MSC haben. Durch die Forschungsarbeiten sollen neue Erkenntnisse über das Potential aus humanen pluripotenten Stammzellen gewonnener MSC zur *In-vivo*-Regeneration der Leber gewonnen werden, die künftig ggf. für die Therapie von CN1, aber auch zur Behandlung anderer Stoffwechselerkrankungen relevant sein könnten, die sich in der Leber manifestieren.

Für die folgenden bereits in der Vergangenheit genehmigten Forschungsvorhaben wurde die Genehmigung auf Antrag hin inhaltlich erweitert und der entsprechende Eintrag im Register nach § 11 StZG auf den Internetseiten des Robert Koch-Instituts ggf. ergänzt bzw. aktualisiert:

Erweiterung der 8. Genehmigung nach dem StZG (Genehmigung erteilt am 28. Januar 2005; Erweiterung der Genehmigung am 15. September 2016). Im Rahmen dieses Vorhabens, in dem die Etablierung eines dreidimensionalen Kultursystems für die Kultivierung von hES-Zellen und deren Differenzierung in leberzellähnliche Zellen anstrebt wird, sollen ergänzend Analysen der Glykosylierungsmuster von hES-Zellen und aus hES-Zellen differenzierten leberzellähnlichen Zellen durchgeführt werden. Daraus sollen sich Hinweise ergeben, warum bisherige *In-vitro*-Differenzierungsstrategien nicht zu reifen Hepatozyten führten und wie die entsprechenden Vorgehensweisen ggf. modifiziert werden können, um zu solchen Zellen zu gelangen. Zudem könnte die Identifizierung spezifischer Glykosylierungsmuster hepatischer Zellen zur Etablierung von Qualitätsmarkern für eine erfolgreiche hepatische Differenzierung menschlicher pluripotenter Stammzellen führen.

Erweiterung der 55. Genehmigung nach dem StZG (Genehmigung erteilt am 3. November 2010; Erweiterung der Genehmigung am 9. August 2016). Gegenstand des Forschungsvorhabens ist die vergleichende Analyse sich kardial differenzierender hES- und hiPS-Zellen. Die Vergleiche sollen nun auf verschiedene Subtypen von Kardiomyozyten (ventrikuläre, atriale und nodale Kardiomyozyten) sowie auf von sich kardial differenzierenden Zellen sezernierte Proteine ausgedehnt werden. Ziel ist es, Zelltyp-spezifische (glykosylierte) Oberflächenproteine zu identifizieren und zu charakterisieren, die als Marker für spezifische kardiale Zelltypen sowie Differenzierungszustände während der kardialen Differenzierung eingesetzt werden könnten, sowie mögliche Funktionen sezernierter (Glyko)Proteine bei der kardialen Differenzierung zu entschlüsseln. Die Forschungsarbeiten können voraussichtlich zu einem vertieften Verständnis von Glykosylierungsvorgängen während der kardialen Differenzierung beitragen und ggf. zu verbesserten kardialen Differenzierungsprotokollen führen.

Erweiterung der 62. Genehmigung nach dem StZG (Genehmigung erteilt am 4. Februar 2011; Erweiterung der Genehmigung am 18. Februar 2016). Das Ziel des Forschungsvorhabens besteht in der Aufklärung der molekularen und zellulären Prozesse, die bei der Entstehung der Chorea Huntington ablaufen, sowie in der Identifizierung von Substanzen, die die Ausprägung der Erkrankung beeinflussen können. Während die ursprünglich genehmigten Arbeiten nur an dem von der Chorea Huntington am stärksten betroffenen Zelltyp, den sog. Medium-Spiny-Neuronen (MSN), durchgeführt werden sollten, sollen sie nun auch auf andere neurale Zelltypen ausgeweitet werden, die ebenfalls von der Chorea Huntington betroffen sind. Ferner stehen seit kurzem genetisch modifizierte hES-Zellen zur Verfügung, in denen CAG-Trinukleotid-*repeats* verschiedener Länge in das Huntingtin-Gen (*HTT*-Gen) eingeführt wurden (sog. *HTT*-Allel-Varianten) und die bei neuraler Differenzierung voraussichtlich den Phänotyp der Chorea Huntington auf zellulärer Ebene abbilden können. Daher sollen nun Wildtyp- und mutierte hES-Zellen in verschiedene Typen neuraler Zellen differenziert und Charakteristika identifiziert werden, die in Abhängigkeit von der CAG-Trinukleotid-*repeat*-Länge auf zellulärer Ebene verändert sind. Ferner sollen die Wirkung von (niedermolekularen) Substanzen auf diese Eigenschaften im Hochdurchsatzverfahren getestet und Bibliotheken von siRNAs mit dem Ziel untersucht werden, Gene zu identifizieren, deren Produkte bei Vorliegen von *HTT*-Allel-Varianten mit einem veränderten zellulären Phänotyp in Zusammenhang stehen. Die Forschungsarbeiten sollen weiterhin dazu beitragen, die Pathogenesemechanismen bei der Entstehung der Chorea Huntington besser als bislang zu verstehen und Grundlagen für neue (medikamentöse) Therapien dieser Erkrankung zu schaffen.

Erweiterung der 63. Genehmigung nach dem StZG (Genehmigung erteilt am 5. April 2011; Erweiterung der Genehmigung am 25. August 2016). Das Vorhaben zielt auf die Etablierung und Charakterisierung eines auf hES-Zellen basierenden Nervenzellmodells, anhand dessen degenerative Motoneuronenerkrankungen untersucht werden können, wie beispielsweise die amyotrophe Lateralsklerose (ALS) oder die hereditäre spastische Paraplegie (HSP). Nunmehr sollen die Forschungsarbeiten auf Zellen ausgedehnt werden, in denen für spastische Paraplegie 11 (SPG11) ursächliche Mutationen des *SPG11*-Gens vorliegen. Dabei soll u. a. geklärt werden, auf welche Weise eine infolge der Mutation veränderte Funktion des Genprodukts von *SPG11* (Spatacsin) zu einer veränderten Aktivität des Wnt-GSK3-beta-Signalweges führt. Ein Ziel der Forschungsarbeiten besteht darin, durch genomische Editierung der entsprechenden Gene, Etablierung genetisch stabil veränderter hES-Zell-Klone sowie umfassende Charakterisierung aus den genetisch veränderten Zellen differenzierten Neurone Kandidatengene zu identifizieren, deren Produkte für die Vermittlung der Wechselwirkungen zwischen Spatacsin und dem Wnt-GSK3-beta-Signalweg bedeutsam sind. Durch die Arbeiten sollen molekulare Veränderungen infolge von Mutationen im *SPG11*-Gen identifiziert werden, die eine der häufigsten autosomal-rezessiven hereditären spastischen Paraplegien verursachen.

Erweiterung der 74. Genehmigung nach dem StZG (Genehmigung erteilt am 31. Okotber 2012; Erweiterung der Genehmigung am 1. November 2016). Das Forschungsvorhaben befasst sich mit vergleichenden Untersuchungen zum Glykosylierungsmuster von sich neuroektodermal differenzierenden hES- und hiPS-Zellen. Dabei soll u. a. untersucht werden, auf welche Weise sich das Glykom, das Transkriptom und das Proteom beider Zelltypen im Verlauf der neuroektodermalen Differenzierung verändern. Ferner sollen das Transkriptom, das Proteom und das Glykom sich neural differenzierender hiPS-Zellen, die eine für die Krankheit CDG-Ia ursächliche Mutation im Gen für PPM-2 tragen, im Vergleich mit hES-Zellen analysiert werden. Daher sollen nun auch die Konsequenzen der Deletion des Gens für Phosphomannomutase II (PMM2) vertieft analysiert werden. Ferner sollen potentielle Veränderungen in der Lipidzusammensetzung infolge der Mutation im *PMM2*-Gen in pluripotenten Stammzellen sowie in daraus abgeleiteten neuralen Zellen bestimmt werden. Da PMM2-CDG neben mentaler und psychomotorischer Retardierung auch zu Störungen des Leberstoffwechsels führt, sollen des weiteren mögliche Unterschiede in den Glykosylierungsmustern in PMM2-defizienten hepatischen Zellen mit jenen in hepatischen Zellen verglichen werden, die aus hES-Zellen abgeleitet werden. Zum anderen sollen Fragen zur Rolle der C-Mannosylierung in humanen pluripotenten Stammzellen und in aus diesen abgeleiteten neuralen und hepatischen Zellen näher untersucht werden. Auch die nachträglich genehmigten Forschungsarbeiten sollen zum Verständnis der Rolle spezifischer Glykosylierungen in pluripotenten und sich differenzierenden Zellen beitragen und das Verständnis einer veränderten Glykosylierung in pathologischen Situationen vertiefen helfen.

Erweiterung der 84. Genehmigung nach dem StZG (Genehmigung erteilt am 26. September 2013, Genehmigung erweitert am 14. Juni 2017). Ursprünglicher Gegenstand des Forschungsvorhabens ist die Untersuchung der Proteostase in hES-Zellen, wobei die Mechanismen und Besonderheiten der Aufrechterhaltung der Protein-Integrität in hES-Zellen bestimmt und neue Erkenntnisse über die molekularen Grundlagen der Regulation von zellulären Alterungsprozessen gewonnen werden sollen. Bislang standen dabei Untersuchungen der verschiedenen Komponenten des Ubiquitin-Proteasom-Systems sowie dessen Regulation im Vordergrund. Im Zuge der Durchführung zuvor genehmigter Forschungsarbeiten war u. a. festgestellt worden, dass die Expression von Genen für bestimmte E2-Enzyme in hES-Zellen erhöht ist. Derartige Enzyme haben wesentliche Funktionen bei der Regulation der Protein-Ubiquitinierung und sind teilweise in die Differenzierung von hES-Zellen involviert. Zudem binden sie aber auch an spezifische Histone und regulieren deren Ubiquitinierung, was auf eine Funktion von E2-Enzymen für die Aufrechterhaltung bzw. die Umgestaltung des Epigenoms hinweist. Im Rahmen der nun genehmigten Forschungsarbeiten soll daher vertieft untersucht werden, welche Rolle E2-Enzyme bei der Differenzierung von hES-Zellen in verschiedene somatische Zelltypen spielen, welche Gene von Veränderungen in der Histon-Methylierung infolge der Ausschaltung von E2-Enzymen betroffen sind und welche molekularen Prozesse der Regulation der Histonmodifizierung durch E2-Enzyme zugrunde liegen. Ferner sollen hES-Zellen genutzt werden, um zu überprüfen, ob zuvor in *C. elegans* identifizierte Regulatoren des Epigenoms auch in hES-Zellen funktionell sind. Die Forschungsarbeiten können dazu beitragen, neue Erkenntnisse über die Regulation des Epigenoms und deren Bedeutung für Pluripotenz, Differenzierung und Zellalterung zu erlangen.

Erweiterung der 90. Genehmigung nach dem StZG (Genehmigung erteilt am 30. Januar 2014; Erweiterung der Genehmigung am 3. Mai 2016). Das Forschungsziel dieses Vorhabens besteht in der Erlangung eines verbesserten Verständnisses von den molekularen Grundlagen jener Prozesse, die bei der Entstehung pankreatischer Vorläuferzellen und deren weiterer Reifung zu funktionsfähigen Zellen des Pankreas ablaufen, insbesondere zu Beta-Zellen. Die nunmehr genehmigten zusätzlichen Arbeiten beinhalten vor allem den Transfer von Reportergenen in die Loci von Genen, deren Produkte als Indikatoren für eine erfolgreiche Differenzierung in Richtung

Beta-Zellen bzw. andere pankreatische Zelltypen dienen können. Zudem sollen die aus hES-Zellen abgeleiteten pankreatischen Zellen vor Transplantation ggf. verkapselt, dieser Prozess optimiert und weitere Transplantationsexperimente mit aus hES-Zellen abgeleiteten pankreatischen Zellen durchgeführt werden. Die Zielstellung des Forschungsvorhabens bleibt dabei unverändert.

Erweiterung der 105. Genehmigung nach dem StZG (Genehmigung erteilt am 29. Oktober 2015; Erweiterung der Genehmigung am 16. August 2016). Gegenstand der genehmigten Arbeiten ist die Entwicklung und Optimierung von Vorgehensweisen für die effektive Herstellung pankreatischer Zellen aus hES-Zellen. Während die bislang genehmigten Arbeiten ausschließlich In-vitro-Experimente umfassten, sollen die aus hES-Zellen abgeleiteten Zellen nun auch hinsichtlich ihrer Fähigkeit untersucht werden, nach Transplantation in Versuchstiere zu reifen. In diesem Zusammenhang sollen verschiedene Materialien zur Verkapselung der differenzierten Zellen vor Transplantation getestet werden. Die Forschungsarbeiten lassen neue Erkenntnisse über die Eigenschaften aus hES-Zellen abgeleiteter pankreatischer Zellen erwarten und können gegebenenfalls zu neuen therapeutischen Verfahren zur Behandlung des Diabetes mellitus führen.

Erweiterung der 114. Genehmigung nach dem StZG (Genehmigung erteilt am 27. Oktober 2016; Erweiterung der Genehmigung am 18. Mai 2017). Das Forschungsvorhaben zielt auf die Entschlüsselung der verschiedenen (patho-)physiologischen Funktionen des *L1*-Gens, die bislang nicht in allen Aspekten bekannt sind. Dabei sollen an einem von hES-Zellen abgeleiteten neuronalen Zellmodell insbesondere die Rolle von Mutationen im *L1*-Gen untersucht werden, die mit dem sog. L1-Syndrom-assoziiert sind, und dabei Fragen zur pathophysiologischen Funktion von L1 in *In-vitro*-Modellen für Neuroinflammation und Ischämie geklärt werden. In diesem Zusammenhang soll nun auch untersucht werden, ob Effekte, wie sie durch die (gentechnische) Wiederherstellung der *L1*-Expression in L1-defizienten Neuronen erreicht werden, auch L1-Agonisten erzielt werden können. Weiterhin ist vorgesehen, Fragen der proteolytischen Prozessierung von L1 unter ischämischen Bedingungen in Anwesenheit verschiedener pharmakologisch wirksamer Substanzen zu untersuchen. Zudem sollen die Effekte neuroprotektiver und anti-inflammatorischer Faktoren auf humane Neurone in einem komplexen *In-vitro*-Modell für traumatische Hirnverletzungen und Ischämie ermittelt werden. Die Forschungsarbeiten dienen weiterhin der Zielstellung, das molekulare Verständnis akut neurodegenerativer Erkrankungen wie Schlaganfall und Schädelhirntrauma zu vertiefen und ggf. zur Identifizierung geeigneter therapeutischer Substanzen beizutragen.

Weitere Angaben zum Gegenstand der erteilten Genehmigungen sowie zu den maßgeblichen Gründen, die jeweils zu einer Bejahung der Frage nach dem Vorliegen der Bedingungen des § 5 StZG geführt haben, sind im Register nach § 11 StZG auf den Internetseiten des Robert Koch-Instituts veröffentlicht.

(http://www.rki.de/DE/Content/Gesund/Stammzellen/Register/register_node.html).

1.3 Erfüllung der Voraussetzungen nach § 4 StZG

Im Rahmen der Bewertung von Anträgen nach dem StZG ist jeweils zu prüfen, ob die hES-Zellen, deren Einfuhr und/oder Verwendung beantragt wurde, den Bedingungen des § 4 StZG entsprechen. Die Prüfung erfolgt auf Grundlage einer vom Antragsteller beigebrachten Dokumentation über die entsprechenden hES-Zell-Linien. In jenen Fällen, in denen die Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen beantragt wird, über die dem RKI bereits eine entsprechende Dokumentation aus früheren Antragsverfahren vorliegt, ist eine erneute Erbringung einer entsprechenden Dokumentation nicht erforderlich. Im Berichtszeitraum wurden die Einfuhr und/oder Verwendung von insgesamt 34 verschiedenen hES-Zell-Linien genehmigt. Für 32 dieser Zell-Linien lag die nach § 6 Absatz 2 Nummer 3 StZG erforderliche Dokumentation am RKI bereits vor. Für zwei hES-Zell-Linien wurde im Berichtszeitraum die Einfuhr und Verwendung erstmals beantragt und nach Prüfung der entsprechenden Dokumentation genehmigt. Gründe nach § 4 Absatz 2 Nummer 2 StZG standen der Einfuhr und Verwendung der hES-Zellen jeweils nicht entgegen. Tatsachen, nach denen die Genehmigung entsprechend § 4 Absatz 3 StZG zu versagen wäre, waren jeweils ebenfalls nicht bekannt.

Angaben darüber, welche humanen embryonalen Stammzell-Linien in den jeweiligen Forschungsvorhaben verwendet werden dürfen, finden sich ebenfalls im Register nach § 11 StZG auf den Internetseiten des RKI

(http://www.rki.de/DE/Content/Gesund/Stammzellen/Register/register_node.html).

Für die Durchführung zahlreicher Forschungsvorhaben wird die Einfuhr und Verwendung mehr als einer humanen embryonalen Stammzell-Linie beantragt. Dies ist insbesondere dadurch begründet, dass sich verschiedene hES-Zell-Linien bezüglich ihrer Charakteristika, beispielsweise hinsichtlich des Ausmaßes ihrer Fähigkeit zur Differenzierung in bestimmte Zelltypen, unterscheiden können und sich folglich manche hES-Zell-Linien besser für die Differenzierung in einen gewissen Zelltyp eignen als andere. Das entsprechende Differenzierungspotential ist aber nicht in jedem Fall bekannt, so dass es im Laufe des Forschungsvorhabens erst erforscht

werden muss. Wenn in einem Vorhaben beispielsweise die Differenzierung in verschiedene Zelltypen vorgesehen ist, ist die Verwendung verschiedener hES-Zell-Linien bereits aus diesem Grund plausibel. Zudem können Schwierigkeiten bestehen, Zugang zu bestimmten hES-Zell-Linien zu erlangen bzw. die hES-Zellen in der gewünschten Qualität (z. B. in geringer Passagenzahl) zu erhalten.

Seit dem Inkrafttreten des Gesetzes zur Änderung des Stammzellgesetzes vom 14.08.2008 (BGBl I S. 1708) besteht infolge der Verschiebung des Stichtags auch die Möglichkeit der Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen, die nach dem 1. Januar 2002 und vor dem 1. Mai 2007 gewonnen wurden (im folgenden „neue“ hES-Zell-Linien). Zuvor war die Nutzung nur weniger „alter“ hES-Zell-Linien statthaft, d. h. von Linien, die vor dem im Stammzellgesetz ursprünglich festgesetzten Stichtag, dem 1. Januar 2002, gewonnen worden waren. Bis zum 31. Dezember 2017 wurden die Einfuhr von 40 verschiedenen „neuen“ hES-Zell-Linien und ihre Verwendung in insgesamt 82 Forschungsvorhaben entweder im Zusammenhang mit der Genehmigung eines neuen Antrags oder im Rahmen der Erweiterung bereits bestehender Genehmigungen nach dem StZG genehmigt, von denen 73 noch nicht abgeschlossen sind. Damit bestand am Ende des Berichtszeitraumes für ca. 68 Prozent aller Forschungsvorhaben, die bislang genehmigt und die noch nicht abgeschlossen wurden, eine Genehmigung zur Nutzung von hES-Zell-Linien, deren Einfuhr und Verwendung erst mit der Änderung des Stammzellgesetzes im Jahr 2008 ermöglicht wurde. Auch zur Durchführung der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben sollen in 64 Prozent der Fälle hES-Zell-Linien genutzt werden, deren Einfuhr und Verwendung erst mit der Stichtagsänderung genehmigungsfähig wurden. Daneben werden auch weiterhin „alte“ hES-Zell-Linien in zahlreichen der genehmigten Forschungsvorhaben genutzt.

Obwohl eine Nutzung älterer hES-Zell-Linien auch im Ausland zu beobachten ist, werden erst nach dem derzeit in Deutschland geltendem Stichtag (also nach dem 1. Mai 2007) abgeleitete Linien dort regelmäßig zur Untersuchung spezifischer Fragestellungen verwendet, für deren Beantwortung in Deutschland nutzbare Linien ggf. nicht geeignet sind. So wurden beispielsweise nach dem 1. Mai 2007 mehrere hES-Zell-Linien unter Bedingungen abgeleitet, die die Etablierung von naiver Pluripotenz bereits bei Ableitung der Zellen ermöglichen. Zudem wurden, ebenfalls nach dem 1. Juli 2007, zahlreiche hES-Zell-Linien unter GMP-Bedingungen in Abwesenheit tierischer Zellen sowie unter ausschließlicher Verwendung synthetischer Zellkulturmedien und -materialien etabliert. Solche Linien sind infolge der Bedingungen ihrer Etablierung und dem daraus resultierendem geringen Risiko von Verunreinigungen und Aberrationen für klinische Anwendungen deutlich besser geeignet als hES-Zell-Linien, die ursprünglich für Forschungszwecke etabliert wurden. Die Nutzung solcher hES-Zell-Linien ist in Deutschland infolge der Stichtagsregelung nicht statthaft, was die Möglichkeit zur Entwicklung neuer Therapien, in denen hES-Zellen als Ausgangsmaterial für ein therapeutisches Produkt genutzt werden sollen, einschränkt. Der Genehmigungsbehörde liegt eine Voranfrage für einen Antrag vor, der – im Rahmen eines europäischen Kooperationsprojektes – die Entwicklung einer Gewebeersatztherapie zur Behandlung des Diabetes mellitus zum Gegenstand hat. Mittelfristiges Ziel wäre die Durchführung einer entsprechenden klinischen Studie in Deutschland. Dafür sollte eine unter GMP-Bedingungen im Jahr 2010 in Großbritannien abgeleitete hES-Zell-Linie mit einem gut gesicherten pankreatischen Differenzierungspotential genutzt werden, deren Verwendung in Deutschland aufgrund der Stichtagsregelung jedoch nicht statthaft wäre. Die Umwandlung in Deutschland nutzbarer hES-Zell-Linien in GMP-gerechtes Material ist zwar grundsätzlich möglich, jedoch mit großem Aufwand und ggf. zusätzlichen Risiken für den Patienten verbunden (beispielsweise infolge der Transmission tierischer Viren bei ursprünglicher Kokultur mit tierischen Zellen oder Verwendung tierischer Medienbestandteile), die bei Nutzung einer bereits unter GMP-Bedingungen abgeleiteten hES-Zell-Linie vermindert sind. Da unter GMP-Bedingungen abgeleitete Linien aber nahezu ausschließlich nach dem 1. Mai 2007 etabliert wurden, sind klinische Forschung und Entwicklung unter Nutzung dafür gut geeigneter hES-Zellen in Deutschland nahezu unmöglich. Dies bedeutet eine Abkopplung von der internationalen Entwicklung: zwar ist gemäß § 5 Nummer 1 StZG die Forschung unter Nutzung von hES-Zellen ausdrücklich auch in Deutschland genehmigungsfähig, wenn sie der Erweiterung medizinischer Kenntnisse bei der Entwicklung neuer therapeutischer Verfahren zur Anwendung bei Menschen dient. Dies schließt, sofern alle Voraussetzungen des StZG erfüllt sind, auch klinische Forschung ein. Jedoch werden in Deutschland derzeit keine klinischen Studien auf der Basis von hES-Zellen durchgeführt, während ca. 30 solcher Studien in den USA, in China, in Israel, in Kanada, in Südkorea, in Großbritannien, in Frankreich und in Brasilien durchgeführt wurden und werden. Diese Studien richten sich auf die Entwicklung zellbasierter Therapien zur Behandlung schwerster und derzeit nicht heilbarer Erkrankungen wie altersbedingte Makuladegeneration, Diabetes mellitus, amyotrophe Lateralsklerose oder Morbus Parkinson. Im Übrigen werden – anders als im Ausland – in Deutschland derzeit auch keine klinischen Studien durchgeführt, die auf hiPS-Zellen basieren.

Anhaltspunkte dafür, dass eine sich ausweitende Forschung an hES-Zellen automatisch einen ständigen Bedarf an neuen hES-Zell-Linien verursacht, liegen auch weiterhin nicht vor: während die Zahl der jährlich zu hES-Zellen publizierten Fachartikel sich in den letzten ca. zehn Jahren nahezu verdreifacht hat, sank die Zahl der im selben Zeitraum jährlich publizierten neuen hES-Zell-Linien erheblich.

Im Berichtszeitraum wurden im Vorfeld von Antragstellungen auch weitere informelle Anfragen an das RKI gerichtet, die sich auf die Genehmigungsfähigkeit der Einfuhr und Verwendung spezifischer hES-Zell-Linien bezogen, von denen am RKI ebenfalls bereits bekannt war, dass sie die Genehmigungsvoraussetzungen des § 4 Absatz 2 StZG aufgrund ihrer Ableitung nach dem 1. Mai 2007 nicht erfüllen. Nach Auskunft durch das RKI wurde auf die entsprechende Antragstellung jeweils verzichtet.

1.4 Erfüllung der Voraussetzungen nach § 5 StZG

Im Rahmen der Prüfung der Genehmigungsvoraussetzungen nach § 6 Absatz 4 Nummer 2 StZG hat die Genehmigungsbehörde bei allen im Berichtszeitraum abschließend bewerteten Anträgen in Übereinstimmung mit den jeweiligen Stellungnahmen der Zentralen Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES) die ethische Vertretbarkeit der betreffenden Forschungsvorhaben im Sinne der Erfüllung der gesetzlichen Voraussetzungen nach § 5 StZG bejaht.

Hochrangigkeit der Forschungsziele

Von den insgesamt 27 Forschungsvorhaben, die im Berichtszeitraum genehmigt worden sind, zielt die Mehrzahl weiterhin auf einen Erkenntnisgewinn zu verschiedenen Fragestellungen der Grundlagenforschung. Dabei liegen nach wie vor Fragen nach den molekularen Grundlagen von Differenzierung und Entwicklung menschlicher Zellen im Fokus des Interesses. hES-Zellen werden ferner zur Entwicklung verbesserter Vorgehensweisen für die Bereitstellung ausreichender Mengen differenzierter und funktional aktiver humaner Zellen sowie für die Etablierung von Zellmodellen für verschiedene Erkrankungen des Menschen genutzt. Ein Teil der genehmigten Forschungsvorhaben zielt zudem auf die Klärung konkreter Fragestellungen, die mit einem künftigen Einsatz von hES-Zellen als Ausgangsmaterial für Zelltherapeutika in Zusammenhang stehen. Schließlich wurden hES-Zellen auch im vergangenen Berichtszeitraum als Standard- und Referenzmaterial für die Klärung von Forschungsfragen unter Nutzung humaner induzierter pluripotenter Stammzellen (hiPS-Zellen) benötigt, wobei die jeweils interessierende Frage in den meisten Fällen auch für hES-Zellen geklärt werden soll. Im Berichtszeitraum wurden Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen im Wesentlichen für die Klärung folgender Fragestellungen genehmigt:

Erstens wird in einigen der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben die Klärung von Forschungsfragen angestrebt, die mit den molekularen Grundlagen der Aufrechterhaltung der Pluripotenz von hES-Zellen und sehr frühen Differenzierungsentscheidungen in Zusammenhang stehen. Dabei soll in zwei Vorhaben ein vertieftes Verständnis der Rolle humaner endogener Retroviren und der von diesen codierten bzw. kontrollierten Genprodukte für verschiedene Formen humaner Pluripotenz und frühe neurale Differenzierungsprozesse erlangt werden. Gegenstand eines anderen Forschungsvorhabens ist die Untersuchung der Funktion von Chromatin-modifizierenden Proteinen für die Pluripotenz humaner ES-Zellen und für frühe Entwicklungsprozesse. In diesen Vorhaben sollen nicht nur Erkenntnisse über die molekularen Eigenschaften von hES-Zellen und die Regulation des Übergangs zur Differenzierung gewonnen, sondern auch Rückschlüsse auf die Biologie der Zellen des frühen menschlichen Embryos gezogen werden.

Zweitens sollen in einem Teil der Forschungsvorhaben entwicklungsbiologische Fragestellungen geklärt werden, die mit der Differenzierung bestimmter Zelltypen aus hES-Zellen und dem Auftreten spezifischer Vorläuferzelltypen im Laufe des Differenzierungsprozesses im Zusammenhang stehen. So soll in einem Projekt beispielsweise geklärt werden, welche Vorläuferzelltypen bei der Entwicklung des ersten Herzfeldes beim Menschen auftreten und welche Faktoren und Signalwege für deren Entstehung, Aufrechterhaltung und weitere Differenzierung maßgeblich sind. In diesem Zusammenhang sollen auch genregulatorische Elemente identifiziert werden, die die kardiale Entwicklung in humanen kardiovaskulären Vorläuferzellen steuern. In einem anderen Vorhaben sollen Fragen nach den molekularen Eigenschaften neuromesodermaler Vorläuferzellen geklärt werden, die eine maßgebliche Funktion bei der fortschreitenden Verlängerung der Längsachse des Embryos bei gleichzeitiger und koordinierter Differenzierung in neurale und mesodermale Zellen haben. Derartige Forschungsarbeiten zielen grundsätzlich darauf, Erkenntnisse über die molekularen Eigenschaften sowie über die Grundlagen von Differenzierungsentscheidungen spezifischer humaner Vorläuferzellpopulationen zu gewinnen, die individuelle Rolle bestimmter Transkriptionsfaktoren für die Selbsterneuerung bzw. für Differenzierungsentscheidungen der Zellen zu bestimmen und ggf. spezifische Signalkaskaden zu identifizieren, die für ihre weitere Entwicklung und Differenzierung maßgeblich sind. In diese Gruppe von Forschungsvorhaben lässt

sich auch ein bemerkenswertes interdisziplinäres Projekt einordnen, in dem neben entwicklungsbiologischen auch anthropologische Fragestellungen zur Genese des menschlichen Gehirns beantwortet werden sollen. Durch Ausschaltung bestimmter humanspezifischer Gene soll deren Einfluss insbesondere auf die Ausprägung neuraler Vorläuferzellpopulationen in hES-Zell-abgeleiteten Gehirn-Organoiden untersucht werden, die für die spezifisch menschliche Ausprägung des Kortex von essentieller Bedeutung sind. Die heute mögliche „Neandertalisierung“ von Genen, die für die Entwicklung des Neokortex bestimmend sind, in hES-Zellen und daraus abgeleiteten Gehirn-Organoiden soll dabei Einblicke in die Veränderung der Gehirnentwicklung im Laufe der Evolution der Hominiden geben. hES-Zellen sollen hier letztlich zur Nachbildung der Menschwerdung auf der Ebene der Gehirnentwicklung genutzt werden, was auch von erheblichem erkenntnistheoretischem Interesse ist.

Drittens ist es ein wesentlicher Gegenstand einer Reihe von Vorhaben, jene Prozesse besser zu verstehen, die auf molekularer und zellbiologischer Ebene bei der gerichteten Differenzierung von hES-Zellen in spezifische Zelltypen des Menschen ablaufen. Auf dieser Grundlage sollen dann entsprechende *In-vitro*-Differenzierungsprotokolle für die effiziente Herstellung der jeweiligen Zelltypen etabliert, weiterentwickelt und optimiert werden. Dies ist für die Verfügbarmachung ausreichender Mengen humaner gewebespezifischer Zellen erforderlich, die für die Etablierung von Krankheitsmodellen, für die Bearbeitung pharmakologisch-toxikologischer Fragestellungen sowie für künftige Zellersatztherapien erforderlich sind. Die im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsarbeiten richten sich insbesondere auf die Gewinnung verschiedener Typen neuraler, kardialer, hepatischer und pulmonaler Zellen, mesenchymaler Stammzellen sowie von Immunzellen, männlichen Keimzellen und Zellen des retinalen und cornealen Epithels. Dabei wird in der Regel an bereits in der wissenschaftlichen Literatur veröffentlichte Vorgehensweisen angeschlossen, wobei häufig die Frage nach den Bedingungen beantwortet werden soll, unter denen die Herstellung möglichst reifer Zelltypen erreicht werden kann, die in funktionaler Hinsicht somatischen menschlichen Zellen möglichst nahekommen. In diesem Zusammenhang wird zunehmend die Differenzierung von hES-Zellen in dreidimensionalen Kontexten untersucht, beispielsweise in Bioreaktoren, Organoiden oder artifiziellem Gewebe. Auch der Einfluss biophysikalischer Stimuli, der Matrix oder bestimmter Trägermaterialien soll in einigen dieser Vorhaben untersucht werden. Zudem sollen Substanzbibliotheken im Hochdurchsatzverfahren auf neue niedermolekulare Substanzen durchsucht werden, die einen differenzierungsfördernden Effekt aufweisen. Durch diese Arbeiten sollen auch weiterhin Fragen zur Differenzierung in den entsprechenden Zelltyp geklärt, Teilschritte der Differenzierung besser verstanden und optimiert, zelluläre Zwischenstadien der Differenzierung identifiziert und umfassender als bislang charakterisiert sowie die Funktion bestimmter Signalübertragungswege und Transkriptionsfaktoren für spezifische Differenzierungsschritte bestimmt werden. Häufig steht die Weiterentwicklung von Differenzierungsprotokollen mit anderen wissenschaftlichen Zielsetzungen in Zusammenhang, beispielsweise mit der Etablierung von Krankheitsmodellen oder der Entwicklung von Vorgehensweisen für künftige regenerative Therapien.

Viertens zielt ein Teil der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben darauf, humane Zellmodelle für die Bestimmung funktionaler Konsequenzen von Gendefekten und für die Untersuchung von Pathogenesemechanismen menschlicher Erkrankungen bereitzustellen und diese für die Untersuchung der molekularen Pathologie der jeweiligen Erkrankung zu nutzen. Dabei sollen sowohl Erkrankungen mit bekannten genetischen Ursachen (beispielsweise L1-Syndrom) als auch Krankheiten mit komplexen und/oder bislang wenig verstandener Ätiologie (beispielsweise kardiale Hypertrophie, psychiatrische Erkrankungen) im Zellkultursystem modelliert werden. Die aus hES-Zellen abgeleiteten somatischen Zellen dienen dabei teils als originäres Zellmodell für die Untersuchung der entsprechenden Fragestellung, in anderen Forschungsvorhaben werden hES-Zellen in erster Linie als Standard- und Referenzmaterial für die Herstellung von Zellmodellen genutzt, die unter Nutzung krankheits- und patientenspezifischer hiPS-Zellen etabliert werden sollen. Wie sich bereits im vergangenen Berichtszeitraum andeutete, können aufgrund der Entwicklung neuer Verfahren auf dem Feld des *gene editing* hES-Zellen genetisch leichter verändert werden, als dies in der Vergangenheit der Fall war. Aus diesem Grunde werden in einigen Vorhaben hES-Zellen genutzt, um Krankheitsmodelle auf dem Weg der Vornahme krankheitsspezifischer Veränderungen zu etablieren und an diesen Zellen – vor dem Hintergrund einer isogenen, genetisch unveränderten Zell-Linie – die Effekte der jeweiligen genetischen Veränderung auf den Phänotyp von Zellen untersuchen zu können, beispielsweise auf ihre Fähigkeit zur Differenzierung in spezifische Zelltypen und auf deren Eigenschaften. Dies betrifft beispielsweise die 117. Genehmigung nach dem Stammzellgesetz: in dem entsprechenden Forschungsvorhaben sollen die Effekte von Mutationen in mit psychiatrischen Erkrankungen assoziierten Genen auf das Differenzierungsverhalten der hES-Zellen und die Eigenschaften der aus ihnen differenzierten Neurone und Gliazellen hin untersucht werden. Die Vornahme derartiger genetischen Veränderungen ist allerdings weiterhin nicht trivial und führt nicht ohne weiteres zu dem jeweils intendierten zellulären Phänotyp. Daher sollen in einigen Forschungsvorhaben hES-Zell-Linien genutzt werden, in denen bereits im Ausland spezifische genetische Veränderungen vorgenommen wurden und die die entsprechenden zellulären Phänotypen aufweisen. Im 106. genehmigten Forschungsvorhaben kommt beispielsweise eine hES-Zell-Linie

mit einem gentechnisch erzeugten Defekt im Synapsin-Gen zum Einsatz, im Rahmen des 62. genehmigten Forschungsvorhabens werden nunmehr hES-Zell-Linien zur Untersuchung des Morbus Huntington verwendet, in denen eine definierte Zahl von CAG-*repeats* in das HD-Gen eingeführt wurde. Im Zuge der 128. Genehmigung werden gentechnisch veränderte hES-Zell-Linien genutzt, die ein hochspezifisches *genome editing* zur Modulation der Genaktivität erlauben, und für die Forschungsarbeiten, die im Rahmen der 131. Genehmigung erlaubt wurden, sollen Reporter-Zell-Linien zur Nachverfolgung der kardialen Differenzierung genutzt werden, die durch komplexe gentechnische Veränderungen aus hES-Zellen gewonnen wurden. Die Verfügbarkeit gut charakterisierter hES-Zellen, in denen solche Veränderungen bereits vorgenommen wurden, ist die Voraussetzung für die erfolgreiche Durchführung entsprechender Forschungsvorhaben.

Insgesamt zielen solche Arbeiten auf neue Erkenntnisse über Veränderungen, die bei der jeweiligen Erkrankung auf molekularer und zellulärer Ebene auftreten, und damit auf ein besseres Verständnis der diesen Erkrankungen zugrundeliegenden Pathogeneseprozesse. Die Arbeiten sollen auch zur Identifizierung von Zielstrukturen führen, deren Modulation die für die Erkrankung charakteristischen phänotypischen Eigenschaften der Zellen verändern und damit ein *target* für Arzneimittelwirkungen sein können. Die auf hES-Zellen basierenden Zellmodelle sollen in einigen Vorhaben weiterhin auch zum Screening von Wirkstoffbibliotheken genutzt werden, wodurch ggf. potentielle Wirkstoffe identifiziert und damit letztlich zur Entwicklung neuer therapeutischer Verfahren zur Behandlung dieser schweren und teils nur inadäquat behandelbaren Erkrankungen beigetragen werden kann.

Fünftens dienen aus hES-Zellen abgeleitete somatische Zellen zur Etablierung von *In-vitro*-Testsystemen, die zur Modellierung viraler Infektionen oder zur Untersuchung der Wirkung von Noxen auf den Menschen genutzt werden sollen. So sollen Zellmodelle für Infektionen mit dem Hepatitis-C-Virus (HCV, 109. Genehmigung nach dem StZG) oder des respiratorischen Synzytial-Virus (hRSV, 110. Genehmigung nach dem StZG) entwickelt werden, an denen dann spezifische Fragestellungen der betreffenden Infektion auf zellulärer Ebene erforscht werden sollen. Derzeit existieren für beide Viren keine *In-vitro*-Modelle, die alle zellulären Aspekte der jeweiligen Virusinfektion adäquat abbilden können. In einem Projekt sollen derartige, aus hES-Zellen abgeleitete *In-vitro*-Modelle für die Untersuchung der schädigenden Wirkung ionisierender Strahlung auf verschiedene sich differenzierende menschliche Zellen, in einem anderen für die Bestimmung der Effekte pro-hypertropher Substanzen auf kardiale Zellen genutzt werden. In Bezug auf eine künftige Nutzung derartiger Testsysteme zur Untersuchung der Wirkung von potentiell hochtoxischen Umweltchemikalien könnte aber nach gegenwärtiger Gesetzeslage voraussichtlich keine Genehmigung erteilt werden, soweit hES-Zellen routinemäßige zur Herstellung des Testsystems verwendet werden sollen. Der routinemäßige Einsatz eines bereits etablierten *In-vitro*-Testsystems zur Bestimmung der Toxizität von Umweltchemikalien kann weder als Grundlagenforschung noch als Forschung mit dem Ziel der Erweiterung medizinischer Kenntnisse bei der Entwicklung diagnostischer, präventiver oder therapeutischer Verfahren zur Anwendung bei Menschen aufgefasst werden; eine derartige Verwendung von hES-Zellen wäre aufgrund der Bestimmungen von § 5 Nummer 1 StZG voraussichtlich nicht genehmigungsfähig.

Sechstens werden die Forschungsarbeiten in einigen der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben teils auch mit der ausdrücklichen Zielstellung verfolgt, potentielle Ausgangsmaterialien für künftige klinische Anwendungen zu gewinnen und diese in entsprechenden präklinischen (Tier)Modellen zu testen. So sollen hES-Zellen im Rahmen der 112. Genehmigung beispielsweise zur Erarbeitung und Optimierung von Strategien für die stammzellbasierte Regeneration von Herzgewebe genutzt werden. Nachdem bereits in der Vergangenheit Protokolle für die Gewinnung großer Mengen kardialer Zellen aus pluripotenten Stammzellen des Menschen etabliert wurden, sollen nunmehr Methoden für die Herstellung transplantierbaren kardialen Gewebes optimiert und unterschiedliche Verfahren für die Transplantation der kardialen Zellen bzw. des kardialen Gewebes in verschiedene Tiermodelle des Myokard-Infarktes getestet werden. In einem anderen Vorhaben (132. Genehmigung) soll überprüft werden, ob und inwieweit sich aus hES-Zellen abgeleitete mesenchymale Stammzellen zur Therapie des Crigler-Najjar-Syndroms eignen. Auch diese im aktuellen Berichtszeitraum genehmigten Vorhaben zielen zwar nicht unmittelbar auf die Durchführung von klinischen Studien; die Genehmigungsinhaber wollen vielmehr Vorgehensweisen entwickeln, um die für klinische Anwendungen erforderlichen Zellen in der erforderlichen Menge, Reinheit und Qualität zur Verfügung stellen zu können, und die entsprechenden *proof-of-concept*-Experimente unter Nutzung geeigneter Versuchstiermodelle durchführen. Das Ziel, Grundlagen für weitere solcher Studien schaffen zu wollen, ist angesichts der internationalen Entwicklung auf diesem Gebiet von hoher Relevanz. Derzeit (Stand 31. Dezember 2017) sind bei der Genehmigungsbehörde 29 im Ausland durchgeführte klinische Studien bekannt, in denen hES-Zellen als Ausgangsmaterial für die transplantierten Zell- /Gewebeprodukte genutzt wurden oder werden; dagegen wurden für derzeit nur drei derartige klinische Studien hiPS-Zellen als Ausgangsmaterial genutzt, von denen eine mit erheblichen Problemen verbunden war. In diesem Zusammenhang wird deutlich darauf hingewiesen, dass klinische Studien, in denen unter Nutzung

von hES-Zellen in Deutschland hergestellte Zellen/Gewebe in Patienten transplantiert werden, da sie Forschungszwecken dienen, nach dem StZG zulässig sind, und – wenn alle Genehmigungsvoraussetzungen erfüllt sind – vom RKI im Hinblick auf das StZG zu genehmigen wären. Die routinemäßige Nutzung von hES-Zellen zur Herstellung eines entsprechenden Produktes und dessen therapeutische Anwendung nach Abschluss der klinischen Prüfung wären dagegen nicht zulässig. Dies ist auch Folge des sog. Forschungsvorbehaltes in den Genehmigungsvoraussetzungen nach § 5 StZG.

Siebentens werden in der Mehrzahl der inhaltlich eigenständigen genehmigten Forschungsvorhaben (14 von 25) hES-Zellen – wie bereits in den vorangegangenen Berichtszeiträumen – zusammen mit hiPS-Zellen eingesetzt. Dabei soll in einem Teil der Vorhaben ein unter Nutzung von hES-Zellen erreichter Erkenntnisgewinn an hiPS-Zellen überprüft werden, um zu neuen Erkenntnissen insbesondere über die Grundlagen von Pluripotenz in hiPS-Zellen sowie über deren Differenzierungsvermögen zu gelangen und Klarheit über Gleichheit oder Unterschiedlichkeit der jeweils interessierenden Eigenschaften zu gewinnen. Wissenschaftliche Fragestellungen werden beispielsweise zunächst unter Verwendung von hES-Zellen geklärt, woraus jeweils ein Erkenntnisgewinn über hES-Zellen selbst erwartet wird. Anschließend soll dann überprüft werden, ob und inwieweit sich hiPS-Zellen bezüglich der jeweils analysierten Eigenschaften mit hES-Zellen identisch verhalten, welche Unterschiede möglicherweise bestehen und worin die Ursachen für solche Unterschiede liegen können. Dies soll letztlich stärker generalisierte Aussagen über spezifische Charakteristika pluripotenter Stammzellen des Menschen ermöglichen. In einigen Forschungsvorhaben werden hES-Zellen dagegen ausschließlich als Referenzmaterial genutzt. Dabei kann zum einen die jeweils interessierende Fragestellung an hES-Zellen bereits geklärt worden und die entsprechenden Eigenschaften von hES-Zellen folglich bereits bekannt sein, so dass hES-Zellen hier als bereits wissenschaftlich entsprechend belegter „*gold standard*“ genutzt werden können. Aus diesen Projekten wird kein eigenständiger Erkenntnisgewinn über hES-Zellen erwartet; die Hochrangigkeit ergibt sich hier ausschließlich aus dem erhofften Wissenszuwachs über hiPS-Zellen. Zum anderen wird in einem Teil der Vorhaben – ohne dass die betreffenden Charakteristika in hES-Zellen je bestimmt worden sind – davon ausgegangen, dass hES-Zellen sich stärker „ursprünglich“ (also wie wahrhaft pluripotente Stammzellen des Menschen) verhalten sollten und daher als Referenzmaterial geeignet sind.

Die Anzahl und die Inhalte der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben zeigen, dass in Deutschland weiterhin Interesse an Forschung unter Verwendung von hES-Zellen besteht. Die nunmehr nahezu 20 Jahre währende Forschung an hES-Zellen hat viele wichtige Erkenntnisse erbracht, aber auch zahlreiche neue Fragen aufgeworfen, die derzeit noch unbeantwortet sind und die gegenwärtig in der internationalen Forschung unter Nutzung von hES-Zellen bearbeitet werden. Weiterer Klärungsbedarf besteht beispielsweise zu den molekularen Grundlagen der Pluripotenz menschlicher Zellen, zu an Differenzierungsentscheidungen beteiligten Genen oder zur Rolle des Epigenoms und des nicht-codierenden Genoms für Entwicklung und Differenzierung. Nicht abschließend geklärt sind viele Fragen danach, auf welchem Wege aus hES-Zellen *in vitro* reife und funktionell aktive somatische Zellen gewonnen werden können. Diese Fragen spiegeln sich auch in den Inhalten und Schwerpunkten der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben wider. Dabei werden jüngste Entwicklungen in der internationalen Forschung an hES-Zellen aufgegriffen und fortgeführt. So nimmt beispielsweise die Forschung an aus hES-Zellen gewonnenen Gehirnorganoiden, deren Etablierung erst 2013 erstmals publiziert wurde, breiten Raum ein. Fortschritte beim *genome editing* unter Nutzung der CRISPR/Cas-Methode werden vielfach zur nunmehr deutlich erleichterten genetischen Veränderung von hES-Zellen genutzt, und in vielen Projekten werden moderne und erst in jüngerer Zeit publizierte Vorgehensweisen für die Gewinnung differenzierter Derivate von hES-Zellen genutzt.

Insgesamt ist auch für den achten Berichtszeitraum deutlich erkennbar, dass die Verwendung von hES-Zellen in der Mehrzahl der genehmigten Forschungsvorhaben weiterhin der Erlangung eines eigenständigen Erkenntnisgewinns über die Eigenschaften von hES-Zellen und aus diesen abgeleiteten Zellen dient. Die von Einigen in der Vergangenheit prognostizierte zunehmende, überwiegende oder gar ausschließliche Verwendung von hES-Zellen als Referenzmaterial bzw. als „*gold standard*“ für die Forschung mit hiPS-Zellen ist sowohl auf internationaler Ebene als auch in Deutschland derzeit nicht erkennbar. So wurden in den Jahren 2014 bis 2016 ca. 1 800 wissenschaftliche Arbeiten in englischsprachigen *peer reviewed*-Journalen veröffentlicht, in denen über Ergebnisse einer experimentellen Nutzung von hES-Zellen berichtet wurde; in weniger als 35 Prozent der Fälle wurden dabei auch gleichzeitig hiPS-Zellen genutzt, wobei eine bloße Nutzung von hES-Zellen als „*gold standard*“ nur in weniger als 10 Prozent der Veröffentlichungen erfolgte[1]. Obwohl die Forschung an hiPS-Zellen sich rasant entwickelt, stellt die Forschung an hES-Zellen – sowohl international als auch in Deutschland – weiterhin ein eigenständiges und hochrelevantes Forschungsfeld dar.

---

[1] Guhr et al. (2018)

Vorklärung der Forschungsfragen

Nach § 5 Nummer 2 Buchstabe a StZG hat der Antragsteller wissenschaftlich begründet darzulegen, dass die im Forschungsvorhaben vorgesehenen Fragestellungen nach dem anerkannten Stand der Wissenschaft „so weit wie möglich bereits in *In-vitro*-Modellen mit tierischen Zellen oder in Tierversuchen“ vorgeklärt worden sind. Für die im achten Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben wurden in den Anträgen die erforderlichen Darlegungen jeweils erbracht. Dabei wurden sowohl Ergebnisse eigener Vorarbeiten als auch Erkenntnisse anderer Arbeitsgruppen dargelegt, die in der internationalen Fachliteratur veröffentlicht wurden. Die jeweiligen Darlegungen haben nach Auffassung der Genehmigungsbehörde den gesetzlichen Voraussetzungen des § 5 Nummer 2 Buchstabe a StZG genügt und konnten die Nutzung von hES-Zellen jeweils rechtfertigen.

Bereits in den vorangegangenen Erfahrungsberichten wurde zu § 5 Nummer 2 Buchstabe a StZG ausgeführt. Gemäß dem Wortlaut des StZG sollen die Vorklärungen, die vom Antragsteller darzulegen sind, in auf tierischen (also nicht-menschlichen) Zellen basierenden *In-vitro*-Modellen oder in Tierversuchen erfolgt sein. Diese Formulierung gibt den Erkenntnisstand zur Zeit der Verabschiedung des StZG im Jahr 2002 wieder. Zu diesem Zeitpunkt lagen nur sehr wenige experimentelle Studien vor, in denen bereits hES-Zellen eingesetzt worden waren, also bestimmte Erkenntnisse zur Plausibilität des Vorhabens direkt aus der hES-Zell-Forschung gewonnen worden waren. Folglich wurde es damals als erforderlich angesehen, dass die jeweils interessierende Fragestellung vor einem Übergang zur Nutzung von hES-Zellen zunächst (und nach Möglichkeit soweit wie möglich) in anderen biologischen Modellen als hES-Zellen untersucht sein sollte.

Die Anfang des Jahrtausends am besten geeigneten Materialien für eine Vorklärung von wissenschaftlichen Fragestellungen, die unter Nutzung von hES-Zellen bearbeitet werden sollten, waren in der Tat tierische Zellen, insbesondere die zu jener Zeit bereits in Teilen gut charakterisierten embryonalen Stammzellen der Maus. Damit sollte u. a. die Plausibilität des Vorhabens sichergestellt und gewährleistet werden, dass das Forschungsvorhaben nach allgemein anerkannten Bewertungsmaßstäben der Wissenschaft und Technik eine sinnvolle und folgerichtige Fortsetzung zuvor erfolgter Arbeiten darstellt, die nunmehr auf menschliche Zellen ausgedehnt werden soll. Zudem soll das Vorklärungserfordernis gewährleisten, dass hES-Zellen nicht für Forschungsansätze verbraucht werden, die bereits unter Nutzung von tierischen Zellkulturen oder im Tierversuch nicht erfolgreich waren, wenn aus diesem Grunde angenommen werden kann, dass sie auch unter Nutzung humaner ES-Zellen nicht zu den erwarteten Ergebnissen führen werden. Seit der Verabschiedung des StZG haben jedoch die Kenntnisse über humane embryonale Stammzellen infolge der sich weltweit rasch entwickelnden Forschung auf diesem Feld stark zugenommen. Während Anfang des Jahres 2002 (also zum Zeitpunkt der Formulierung des Stammzellgesetzes) lediglich ca. 20 wissenschaftliche Originalpublikationen vorlagen, in denen Ergebnisse einer experimentellen Verwendung von hES-Zellen dokumentiert waren, sind es zum Ende des Berichtszeitraumes nach Kenntnis der Genehmigungsbehörde nahezu 6000. Dies sind 300mal so viele wissenschaftliche Arbeiten, wie sie zur Zeit der Verabschiedung des Stammzellgesetzes vorlagen. Fragestellungen zu hES-Zellen, die zu Beginn der Forschung an diesen Zellen eine Vorklärung an tierischen Zellen aus wissenschaftlicher Sicht tatsächlich erforderlich erscheinen ließen, sind mittlerweile geklärt. In der gegenwärtigen Forschung an hES-Zellen geht es um die Beantwortung sehr viel stärker detaillierter und spezialisierter Forschungsfragen. Zu einer Vielzahl dieser Fragestellungen liegen mittlerweile umfangreiche Kenntnisse aus Forschungen an hES-Zellen selbst vor, aber auch aus der Forschung mit anderen menschlichen Zelltypen, die eine höhere Aussagekraft im Hinblick auf die Vorklärung der jeweiligen wissenschaftlichen Fragestellung haben, als sie Voruntersuchungen an tierischen Zellen oder in Tierversuchen liefern können. Aus diesem Grund kann nach dem zum Zeitpunkt der Antragstellung bestehenden Kenntnisstand für viele an hES-Zellen zu klärende Forschungsfragen kein für die Vorklärung relevanter Erkenntnisgewinn mehr erwartet werden; so dass es entbehrlich ist, hier weitere Vorklärungen unter Nutzung von „*In-vitro*-Modellen mit tierischen Zellen oder in Tierversuchen“ zu fordern.

Auch im aktuellen Berichtszeitraum lag für die Mehrzahl der Fragestellungen, die in den genehmigten Forschungsvorhaben untersucht werden, wiederum ein Stand des Wissens vor, der sogar weit über einen grundlegenden *proof-of-concept* hinausging; dieser Wissensstand erfüllt bereits den gesetzlichem Zweck der hinreichenden Plausibilität des Vorhabens und ließe sich zudem in Hinblick auf die jeweilige spezifische Fragestellung durch sog. Vorarbeiten an tierischen Zellen oder an Tiermodellen aller Voraussicht nach nicht erweitern. Darlegungen zur Vorklärung an tierischen Zellen oder Tiermodellen waren aus Sicht der Genehmigungsbehörde daher in vielen Fällen zur Erfüllung der gesetzlichen Anforderung, die bereits anders erfüllt war, nicht mehr sinnvoll und folglich entbehrlich. Das gilt beispielsweise für jene Vorhaben, in denen Differenzierungsprotokolle weiterentwickelt und optimiert werden sollen. Hier liegen regelmäßig bereits zahlreiche Arbeiten vor, in denen entsprechende Protokolle spezifisch für hES-Zellen entwickelt worden sind und im Rahmen der genehmigten Arbeiten lediglich weiter optimiert oder beispielsweise der jeweils genutzten hES-Zell-Linie angepasst

werden sollen. Die Forderung, diese Protokolloptimierungen beispielsweise zunächst an embryonalen Stammzellen der Maus vorzunehmen, bevor die Verwendung von hES-Zellen zur Beantwortung dieser wissenschaftlichen Fragestellung genehmigt werden kann, wäre weder aus wissenschaftlicher noch rechtlicher Sicht zielführend.

Auch auf ein weiteres Problem, das sich im Hinblick auf das Erfordernis der Vorklärung der Forschungsfragen an tierischen Zellen oder im Tierversuch regelmäßig ergibt, wurde bereits in vergangenen Berichten hingewiesen. Eine detaillierte Untersuchung der Fragestellungen, die an hES-Zellen geklärt werden sollen, kann – wenn sie unter Nutzung tierischer Zellen erfolgt – in vielen Fällen dann nicht zur Vorklärung der jeweiligen wissenschaftlichen Fragestellungen beitragen, wenn bereits bekannt ist, dass sich tierische und menschliche Zellen in den jeweils relevanten Eigenschaften erheblich unterscheiden. Die Übertragbarkeit der Ergebnisse aus Untersuchungen an tierischen Zellen auf menschliche Zellen ist in solchen Fällen nicht möglich; entsprechende Voruntersuchungen wären folglich hinsichtlich einer Vorklärung irrelevant. Dies betrifft beispielsweise Projekte, in denen die molekularen Grundlagen der Pluripotenz menschlicher ES-Zellen untersucht werden sollen; hier bestehen teils erhebliche speziesspezifische Unterschiede, die zum Teil erst im Zuge der Forschung an hES-Zellen offenbar wurden. Zudem lassen sich auch Fragen zur Evolution des menschlichen Gehirns im Tiermodell offensichtlich nur begrenzt am Tier vorklären. Auch Forschungsvorhaben, in denen Zellmodelle für humane Krankheiten etabliert werden sollen, beispielsweise durch Ausschaltung der Expression bestimmter Gene, können im Mausmodell teilweise nicht sinnvoll vorgeklärt werden, wenn bereits vor der Antragstellung bekannt ist, dass entsprechende genetische Veränderungen in Zellen der Maus einen anderen zellulären Phänotyp als im Menschen zur Folge haben. Auch die Modellierung psychiatrischer Erkrankungen ist im Tiermodell nur schwer vorzuklären. Die an hES-Zellen geplanten Experimente zunächst an tierischen Zellen durchzuführen würde hier aller Voraussicht nach keinen für die Vorklärung der wissenschaftlichen Fragestellung relevanten Erkenntnisgewinn erbringen. Entsprechende Vorklärungen können daher ebenfalls nicht sinnvoll gefordert werden.

Insgesamt werden von der Genehmigungsbehörde bei der Entscheidung darüber, ob das Forschungsvorhaben den Bedingungen des § 5 Nummer 2 Buchstabe a StZG entspricht, Sinn und Zweck des Vorklärungserfordernisses weiterhin so ausgelegt, dass die Forschungsfragen *„wenigstens"* an tierischen Zellen oder im Tierversuch vorgeklärt sein müssen. Das Erfordernis, dass die Forschungsfragen „so weit wie möglich" an tierischen Zellen bzw. im Tierversuch untersucht sein sollen, wird weiterhin so verstanden, dass die Forschungsfragen nach dem *jeweils aktuellen* Stand des Wissens *hinreichend* vorgeklärt sein müssen. Angesichts des gegenwärtigen internationalen Forschungsstandes zu humanen pluripotenten Stammzellen und der Tatsache, dass die Schlüssigkeit eines Forschungsansatzes mittlerweile nicht selten allein mit dem bereits vorhandenen Kenntnisstand zu hES-Zellen begründet werden kann, erscheint dieses Verständnis dem Normzweck des § 5 Nummer 2 Buchstabe a weiterhin besser zu entsprechen als eine wörtliche Auslegung. Diese Art der Auslegung besteht bereits seit mehreren Jahren, und darüber wurde wiederholt berichtet. Entsprechend wurde auch im aktuellen Berichtszeitraum bei Darlegung „hinreichender" Vorklärungen der wissenschaftlichen Fragestellungen, die im übrigen ggf. auch an anderen menschlichen Zellen als hES-Zellen durchgeführt worden sein können, regelmäßig keine Notwendigkeit für die weitere Vorklärung derselben Fragestellung in „*In-vitro*-Modellen mit tierischen Zellen oder in Tierversuchen" gesehen. Dieses Verständnis der Vorgaben des StZG steht zudem auch in Einklang mit der Auffassung der Zentralen Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES) zu dieser Frage. Im Übrigen entspricht es auch den erheblichen Bemühungen in Deutschland, die Anzahl der Tierversuche zu reduzieren. Allerdings sind Aspekte des Tierschutzes bei der Prüfung des Vorliegens einer hinreichenden Vorklärung der Forschungsfrage weiterhin allein kein zulässiger Grund, als erforderlich angesehene Voruntersuchungen in Tierversuchen nicht zu verlangen.

Erforderlichkeit der Verwendung von hES-Zellen

Gemäß § 5 Nummer 2 Buchstabe b StZG ist durch den Antragsteller darzulegen, dass der mit dem Forschungsvorhaben angestrebte wissenschaftliche Erkenntnisgewinn voraussichtlich nur unter Verwendung von hES-Zellen erreicht werden kann. In diesem Zusammenhang ist durch die Genehmigungsbehörde auf Grundlage der Darlegungen des Antragstellers jeweils zu prüfen, ob ggf. Alternativen zur Nutzung von hES-Zellen bestehen und ob ggf. hinreichende Belege dafür existieren, dass die Forschungsziele auch unter ausschließlicher Nutzung anderer Zellen als hES-Zellen erreicht werden können. In diesem Fall wäre die Einfuhr und/oder Verwendung von hES-Zellen nicht genehmigungsfähig.

Auf Grundlage des aktuellen Stands des Wissens wurde von den Antragstellern jeweils dargelegt, dass die Verwendung von hES-Zellen zur Erreichung der Forschungsziele erforderlich ist. Die jeweils formulierten Forschungsziele lassen sich demnach nicht unter Nutzung tierischer Zellen erreichen. Dies ist weiterhin durch bereits bekannte spezies-spezifische Unterschiede in den Eigenschaften der Zellen begründet oder ergibt sich

zwingend aus jeweils verfolgten Forschungszielen. Dies ist beispielsweise in jenen Forschungsvorhaben der Fall, die auf die Bereitstellung von *humanem* Zellmaterial zielen, wie sie für künftige klinische Anwendungen oder für pharmakologisch-toxikologische Fragestellungen mit Spezifität für den Menschen benötigt werden, aber auch für die Etablierung von Zellmodellen zur Erforschung molekularer Grundlagen von Erkrankungen des Menschen, die an tierischen Zellen nicht erfolgen kann, da beispielsweise die den jeweiligen Erkrankungen zugrundeliegenden genetischen Veränderungen im Mausmodell andere phänotypische Effekte erzeugen, als sie beim Menschen beobachtet werden.

Ferner bestehen auch die in vorherigen Berichten benannten Einschränkungen für nicht-pluripotente Zellen des Menschen fort. Die Möglichkeit zur Nutzung solcher Zellen als mögliche Alternative zu hES-Zellen wird ebenfalls regelmäßig geprüft, teils unter Bezug auf über die Darlegungen der Antragsteller hinausgehende wissenschaftliche Daten. Primäre menschliche Zellen stehen weiterhin in vielen Fällen nicht in der für die jeweilige Projektdurchführung erforderlichen Menge und in reproduzierbarer Qualität zur Verfügung. Zudem sind somatische (Stamm)Zellen des Menschen häufig schwer zugänglich, lassen sich in Kultur teils nur schlecht vermehren und/oder haben bereits Entwicklungsstadien durchschritten, die in den entsprechenden Forschungsvorhaben analysiert werden sollen. Dies gilt auch für die Nutzung von primären (Stamm)Zellen aus abgetrieben Föten, deren Nutzung bei gleicher Eignung zur Erreichung der Forschungsziele gemäß § 5 Nummer 2 Buchstabe b StZG einer Verwendung von hES-Zellen vorzuziehen wäre. Dies war jedoch auch im aktuellen Berichtszeitraum nicht der Fall. Zudem ist für humane (somatische oder fötale) Stammzellen teils nicht oder nur unzureichend bekannt, ob und inwieweit sie genetischen Veränderungen zugänglich sind; diese sind aber Voraussetzung für die Durchführung vieler der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsarbeiten. Tumorzell-Linien und (immortalisierte) Zell-Linien aus abgetriebenen Föten weisen vielfach die für die jeweilige Projektdurchführung erforderlichen biologischen Eigenschaften nicht auf.

Seit der Etablierung humaner iPS-Zellen ist für jeden Antrag auch zu überprüfen, ob das formulierte Forschungsziel ggf. unter ausschließlicher Verwendung von hiPS-Zellen erreicht werden kann, da hES- und hiPS-Zellen ähnliche Eigenschaften aufweisen. Hierbei wird das Gesetz durch die Genehmigungsbehörde weiterhin so ausgelegt, dass die bloße Vermutung, dass die jeweils zu klärenden Forschungsfragen ggf. auch durch ausschließliche Nutzung von hiPS-Zellen beantwortet werden könnten, für eine Versagung der Genehmigung nicht hinreichend ist. Vielmehr müssten zum Zeitpunkt der Entscheidung über den entsprechenden Antrag bereits Forschungsergebnisse vorliegen, die belegen, dass die Forschungsziele unter alleiniger Nutzung von hiPS-Zellen mit hinreichender Wahrscheinlichkeit tatsächlich erreichbar sind. Andernfalls wäre die Versagung einer Genehmigung nicht gerechtfertigt.

Auch im aktuellen Berichtszeitraum sollen bei der Durchführung der genehmigten Forschungsvorhaben wissenschaftliche Fragestellungen untersucht werden, die bislang weder unter Nutzung von hES- noch unter Verwendung von hiPS-Zellen beantwortet wurden. Dies betrifft beispielsweise die Entwicklung von *In-vitro*-Modellen für neurodegenerative oder psychiatrische Erkrankungen. Hier sollen Zellmodelle auf der Grundlage pluripotenter Stammzellen des Menschen entwickelt werden, wobei hES- und hiPS-Zellen ggf. parallel genutzt werden sollen. Gerade bei Krankheiten, deren genetische Ursachen gut verstanden sind, bieten hES-Zellen die Möglichkeit, die Krankheit durch gezielte genetische Veränderung der Zellen und deren Differenzierung in den betroffenen Zelltyp vor einem isogenen Hintergrund zu modellieren und anschließend ggf. einen Vergleich mit entsprechenden hiPS-Zell-basierten Modellen aus erkrankten Patienten durchzuführen. In anderen Forschungsvorhaben sollen molekulare Grundlagen von Pluripotenz und Differenzierungsentscheidungen ergründet werden, die bislang ebenfalls nicht oder nur in Ansätzen an pluripotenten Stammzellen des Menschen untersucht worden sind. Bezogen auf im aktuellen Berichtszeitraum genehmigte Forschungsvorhaben betrifft dies beispielsweise Fragen nach der Rolle endogener Retroviren für Pluripotenz und neurale Differenzierung oder nach den molekularen Grundlagen neuromuskulärer Differenzierung. Für diese Fragestellungen liegen bislang keine ausreichenden Hinweise für die Identität der jeweils relevanten Eigenschaften von hES- und hiPS-Zellen vor. In einigen Fällen wiederum wurden hES-Zell-Linien benötigt, in denen bereits zuvor außerhalb Deutschlands spezifische und teils umfangreiche genetische Veränderungen vorgenommen wurden, die für die Beantwortung der jeweiligen Forschungsfragen essentiell sind. Die Erzeugung derartiger Zell-Linien ist mit teils erheblichem Aufwand verbunden, und es kann nicht vorhergesagt werden, ob und inwieweit die Herstellung analoger genetisch veränderter Zellen aus hiPS-Zellen zu einem zellulären Phänotyp führt, der mit jenem der genetisch veränderten (und bereits für ähnliche wissenschaftliche Fragestellungen erprobten) hES-Zellen identisch ist. Auch hier ist die bloße Vermutung, dass identische genetische Veränderungen in hiPS-Zellen zu einem identischen Phänotyp führen *könnten*, nicht hinreichend, um die Nutzung der hES-Zellen zu versagen. Da die Prüfung der Anträge auf der Grundlage des aktuellen Stands der Wissenschaft zu erfolgen hat, kann der Antragsteller auch nicht verpflichtet werden, dies zunächst zu überprüfen.

Insgesamt gibt es in der Literatur weiterhin teils widersprüchliche Angaben darüber, ob und inwieweit sich hES- und hiPS-Zellen zur Beantwortung bestimmter Fragestellungen in gleicher Weise eignen. Dies hängt eng mit der Frage nach der molekularen Identität beider Zelltypen zusammen, die auch im aktuellen Berichtszeitraum Gegenstand intensiver Forschung war. Es ist weiterhin ungeklärt, ob die teils beobachteten Unterschiede zwischen hES- und hiPS-Zellen genereller Natur sind oder aber vor allem durch Unterschiede in den genutzten Zell-Linien sowie in den Vorgehensweisen verursacht werden, die für die Gewinnung der hiPS-Zellen aus somatischen Zellen sowie für ihre Kultivierung eingesetzt werden. hiPS-Zellen weisen eine erhebliche Variabilität in ihrem Differenzierungsvermögen auf, was durch die Methode der Reprogrammierung, den für die Reprogrammierung genutzten somatischen Zelltyp und ein vermutlich durch unvollständige Reprogrammierung bedingtes epigenetisches Gedächtnis verursacht sein kann.

Die Klärung solcher Fragen ist auch Gegenstand der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben, in denen durch vergleichende Untersuchungen an hES- und hiPS-Zellen geklärt werden soll, ob sich beide Typen pluripotenter Stammzellen des Menschen identisch verhalten, ob und welche Unterschiede bestehen und was die molekularen Grundlagen solcher Unterschiede sind. Dies erfordert die Nutzung von hES-Zellen. Auch zur Klärung jener Forschungsfragen, für die hES-Zellen ausschließlich als Referenzmaterial bzw. „*gold standard*“ zur Überprüfung von für pluripotente Zellen charakteristische Eigenschaften verwendet werden sollen, werden weiterhin hES-Zellen benötigt. Schließlich gibt es weiterhin auch Fragestellungen, die sich voraussichtlich grundsätzlich nicht unter Verwendung von hiPS-Zellen klären lassen. Dies betrifft insbesondere jene Vorhaben, in denen Fragen nach frühen Veränderungen im Epigenom sich differenzierender menschlicher Stammzellen im Mittelpunkt des Interesses stehen, beispielsweise bei der Untersuchung der Rolle des Methyloms bei der Herzzellentwicklung oder des Einflusses von Glukokortikoiden auf epigenetische Veränderungen während früher Prozesse der Neurogenese.

Fragen nach der genetischen und epigenetischen Stabilität von hiPS-Zellen sowie nach ihrer Fähigkeit zur Differenzierung in spezifische Zelltypen sind insbesondere auch im Hinblick auf eine künftige klinische Nutzung pluripotenter Stammzellen des Menschen von großem Interesse. Die erste klinische Studie unter Nutzung von hiPS-Zellen war bereits im März 2015 aufgrund einer möglicherweise reprogrammierungsbedingten genetischen Veränderung in den für die Transplantat-Herstellung genutzten hiPS-Zellen abgebrochen und in der ursprünglich geplanten Form nicht fortgesetzt worden. Es ist derzeit nicht erkennbar, welche Art pluripotenter menschlicher Stammzellen künftig Ausgangspunkt für welche Therapien zur Behandlung welcher bislang nicht heilbarer Erkrankungen sein wird. Daher ist es weiterhin gerechtfertigt, die mit einer künftig geplanten Nutzung von hES-Zellen für therapeutische Zwecke verbundenen wissenschaftlichen Fragestellungen an diesen Zellen zu bearbeiten. Dies ist in einigen der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben vorgesehen und macht die Nutzung von hES-Zellen in den entsprechenden Forschungsvorhaben ebenfalls erforderlich.

1.5 Prüfung und Bewertung durch die Zentrale Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES)

Die Zentrale Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES), die von der Bundesregierung zum 20. August 2017 zum sechsten Mal berufen wurde, hat die gesetzliche Aufgabe, Anträge auf Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen anhand der eingereichten Unterlagen hinsichtlich der Frage zu prüfen und zu bewerten, ob die betreffenden Forschungsvorhaben die gesetzlichen Voraussetzungen nach § 5 StZG erfüllen und in diesem Sinne ethisch vertretbar sind. Sie hat hierzu gegenüber der Genehmigungsbehörde eine schriftliche Stellungnahme abzugeben. Das Vorliegen einer Stellungnahme der ZES ist nach § 6 Absatz 4 Nummer 3 StZG eine Voraussetzung für die Entscheidung über einen Antrag auf Einfuhr und Verwendung humaner embryonaler Stammzellen zu Forschungszwecken.

Die ZES hat in ihren Stellungnahmen zu den Forschungsvorhaben, die Gegenstand der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben sowie der Genehmigungserweiterungen für bereits in der Vergangenheit bewilligte Forschungsvorhaben sind, die gesetzlichen Voraussetzungen nach § 5 StZG als erfüllt und die Forschungsvorhaben als in diesem Sinne ethisch vertretbar bewertet. Sie hat die Wahrnehmung ihrer Aufgaben in ihren Tätigkeitsberichten nach § 14 der ZES-Verordnung (ZESV) vom 18. Juli 2002 (BGBl. I S. 2663) für den Zeitraum vom 1. Januar 2016 bis 31. Dezember 2016 (14. Tätigkeitsbericht der ZES) und für den Zeitraum vom 1. Januar 2017 bis 31. Dezember 2017 (15. Tätigkeitsbericht der ZES) dargestellt. Die Tätigkeitsberichte sind unter anderem auf den Internetseiten des Bundesministeriums für Gesundheit veröffentlicht

(https://www.bundesgesundheitsministerium.de/service/begriffe-von-a-z/z/zentrale-ethik-kommission-fuer-stammzellenforschung.html)

2 Stand der Forschung mit pluripotenten menschlichen Stammzellen

2.1 Einleitung

Der achte Erfahrungsbericht der Bundesregierung zur Durchführung des Stammzellgesetzes (StZG) umfasst den Berichtszeitraum 2016 bis 2017. Der Bericht fasst aktuelle Entwicklungen im Forschungsfeld der humanen embryonalen Stammzellen (hES-Zellen) und der humanen induzierten pluripotenten Stammzellen (hiPS-Zellen) zusammen. Aktuelle Entwicklungen bei anderen Arten von Stammzellen verschiedener Gewebe (adulte Stammzellen) und Blutstammzellen (hämatopoetische Stammzellen, HSC) werden ebenfalls dargestellt. Dieser Bericht erläutert ausschließlich die wissenschaftlichen Grundlagen, die für das Verständnis der dargestellten Entwicklungen relevant sind. Für weitere Grundlagen wird auf vorhergehende Erfahrungsberichte und die einschlägige Fachliteratur verwiesen (zusammengefasst in Müller et al., 2015; Zenke et al., 2018).

In den vorangegangenen sieben Erfahrungsberichten der Bundesregierung zur Durchführung des Stammzellberichts sind die aktuellen Entwicklungen im jeweiligen Zeitraum sowie ausgewählte Themen dargestellt worden, die im betreffenden Zeitraum eine besonders rasante Entwicklung erfahren haben. Diese Berichte, die jeweils an die vorhergehenden Berichte anknüpften, stellten folgende Themen vor:

1. Der erste Erfahrungsbericht der Bundesregierung zur Durchführung des Stammzellgesetzes im Berichtszeitraum 2002/03 (Bundestagsdrucksache 15/3639) stellte die Rahmenbedingungen, Ergebnisse und Ausblicke der Grundlagenforschung und mögliche zukünftige Einsatzgebiete von embryonalen und adulten Stammzellen in der modernen Medizin vor.
2. Im zweiten Erfahrungsbericht für die Jahre 2004/05 (Bundestagsdrucksache 16/4050) wurden wichtige Fortschritte, die seit dem ersten Bericht erzielt wurden und Beispiele von offenen Fragen im Bereich der Forschung sowie Perspektiven eines möglichen therapeutischen Einsatzes von embryonalen und adulten Stammzellen beschrieben.
3. Im dritten Bericht 2006/07 (Bundestagsdrucksache 16/12956) wurden ebenfalls, anknüpfend an die ersten beiden Berichte, neue wissenschaftliche Erkenntnisse zusammengefasst. Die Forschung mit hES-Zellen war 2007 bereits weltweit umfassend etabliert, und hES-Zellen wurden als wichtige Forschungsressource genutzt. Die neue Entwicklung der induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS-Zellen) (Takahashi und Yamanaka, 2006) wurde hier zum ersten Mal vorgestellt. iPS-Zellen werden aus differenzierten Körperzellen durch das Einbringen bestimmter Transkriptionsfaktoren (beispielsweise Oct4, Sox2, Klf4 und c-Myc, abgekürzt als OSKM) in einen pluripotenten Zustand versetzt, der auch in embryonalen Stammzellen vorliegt.
4. Der vierte Bericht für die Jahre 2008/09 (Bundestagsdrucksache 17/4760) beschrieb erneut die wesentlichen neuen wissenschaftlichen Erkenntnisse und Entwicklungen der Forschung mit hES-Zellen und anderen Stammzellen. Hier wurde besonders auf die Erzeugung von humanen iPS-Zellen (hiPS-Zellen), die 2007 erstmals beschrieben wurden (Takahashi et al., 2007; Yu et al., 2007), und auf die Unterschiede zwischen hiPS-Zellen und hES-Zellen sowie von hES-Zellen untereinander eingegangen.
5. Im fünften Bericht zum Zeitraum 2010/11 (Bundestagsdrucksache 17/12882) wurden unter anderem die Entwicklung von In-vitro-Testmethoden für toxikologische und pharmakologische Untersuchungen sowie die sich abzeichnende Entwicklung von stammzellbasierten Therapien thematisiert.
6. Der die Jahre 2012/13 umfassende sechste Erfahrungsbericht (Bundestagsdrucksache 18/4900) gab einen Überblick über die aktuellen Entwicklungen in der Forschung mit hES-Zellen und hiPS-Zellen sowie über aktuelle Entwicklungen auf dem Gebiet anderer biomedizinisch nutzbarer Stammzellen. Im Bericht wurde besonderes Augenmerk auf neue Methoden zur punktgenauen genetischen Veränderung von pluripotenten Stammzellen, auf die Fortschritte bei der direkten Transprogrammierung (Umprogrammierung) eines somatischen Zelltyps in einen anderen sowie auf die Vorbereitung von klinischen Studien mit aus hES-Zellen abgeleiteten Zelltransplantaten gerichtet.
7. Im siebten Bericht für die Jahre 2014/15 (Bundestagsdrucksache 18/12761) wurden die neuen Forschungsaktivitäten in den im sechsten Bericht thematisierten Wissenschaftsfeldern vertieft vorgestellt sowie über aktuelle Entwicklungen bei anderen Arten von biomedizinisch einsetzbaren Stammzellen berichtet. Der Bericht beschrieb, wie Verfahren der Genom-Editierung in der Stammzellforschung eingesetzt werden, und erläuterte Vorgehensweisen bei der Erzeugung dreidimensionaler Aggregate, der sogenannten Organoide.

Der nun vorliegende achte Erfahrungsbericht beleuchtet neue wissenschaftliche Entwicklungen in der Erforschung humaner pluripotenter Stammzellen (hPS-Zellen), zu denen sowohl hES-Zellen als auch hiPS-Zellen zählen. Es werden Weiterentwicklungen in den Bereichen der Organoide, der Modellsysteme für Erkrankungen

und für die Wirkstoffforschung (Medikamenten- und Toxizitäts-Tests) sowie die Genom-Editierung mit Designernukleasen vorgestellt. Ein weiterer Schwerpunkt liegt auf der Entwicklung von Technologien für Einzelzell-Analysen, die wesentlich präzisere Erkenntnisse zur Entwicklungsbiologie von Stammzellen ermöglichen. Weitere Themen umfassen den Übergang von Zelltypen in einen ausgereiften Zustand sowie die Funktion des Zellstoffwechsels bei dieser Ausreifung. Der Bericht widmet sich umfassend den im Berichtszeitraum weltweit durchgeführten klinischen Studien mit aus pluripotenten Stammzellen abgeleiteten Zellen. Der Überblick wird durch die Beschreibung ausgewählter bedeutender Fortschritte in anderen Bereichen der Stammzellforschung ergänzt, wie sie etwa unter Nutzung von Tiermodellen oder von Gewebestammzellen (adulten Stammzellen) zu verzeichnen sind.

2.2 Bestand an und Kultivierung von menschlichen embryonalen Stammzelllinien

Es wird geschätzt, dass mehrere tausend humane pluripotente Stammzelllinien seit der ersten erfolgreichen Gewinnung von hES-Zellen im Jahr 1998 durch die Gruppe von James A. Thomson (Thomson et al., 1998) generiert worden sind (Seltmann et al., 2016). Im „Human Pluripotent Stem Cell Registry“ (hpscreg.eu), einem durch die EU-Kommission geförderten Online-Informationsportal, werden seit 2007 Informationen zu humanen pluripotenten Stammzellen (hPSC) zusammengetragen (hPSC Registry, 2018; Seltmann et al., 2016). Am 1. Juni 2018 waren in dem Register 738 hES-Zelllinien und 1798 hiPS-Zelllinien verzeichnet (hPSC Registry, 2018). Zum Vergleich: Am 12. Januar 2016 waren 685 hES-Zelllinien und 120 hiPS-Zelllinien erfasst.

Die US-amerikanischen National Institutes of Health (NIH) betreiben seit 2001 ebenfalls ein Register, in dem hES-Zelllinien erfasst werden, die für Forschungsprojekte mit NIH-Förderung verwendet werden dürfen (National Institutes of Health, 2018). Zum 31. Dezember 2017 waren dort 390 hES-Zelllinien verzeichnet, von denen 27 im Jahr 2016 und weitere 12 Linien im Jahr 2017 neu hinzugekommen sind. 25 dieser 39 neuen Zelllinien sind aufgrund von Mutationen in krankheitsrelevanten Genen etabliert worden, die mittels Präimplantations-Diagnostik (PID) festgestellt wurden. Diese können zu Modellsystemen für Erkrankungen, die mit diesen Genen assoziiert sind, entwickelt werden. Die restlichen 14 neuen hES-Zelllinien sind genotypisch Wildtyp, sie wurden überwiegend aus den entsprechenden Geschwister-Embryonen der mutierten Embryonen gewonnen und stellen ein gutes Referenzmaterial für die Zelllinien mit Mutationen dar. Die britische UK Stem Cell Bank (UK-SCB) des National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC), bei der ebenfalls ein Register embryonaler Stammzelllinien besteht, erfasst überwiegend britische hES-Zelllinien. Drei dieser Linien können nach den Richtlinien der Europäischen Kommission für Gewebe- und Zell-Transplantation (EU Tissue and Cells Directive – EUTCD) für klinische Studien verwendet werden (UK Stem Cell Bank/NIBSC, 2018).

Die Daten aus den Registern legen nahe, dass weltweit immer weniger neue hES-Zelllinien generiert werden, während die Anzahl von hiPS-Zelllinien sprunghaft ansteigt. Das Register hpscreg.eu verzeichnete mehr als 2000 neu registrierte iPS-Zelllinien in den Jahren 2016/2017. Die internationale Forschergemeinde, die mit pluripotenten Stammzellen arbeitet, konzentriert sich auf einige wenige hES-Zelllinien als Standard. Nur wenige Daten wurden zu neu gewonnenen hES-Zelllinien publiziert. Neue hES-Zelllinien wurden im Berichtszeitraum nur noch selten für allgemeine Forschungszwecke gewonnen. In erster Linie dienen die neuen Zelllinien der Erforschung von Erbkrankheiten und der Etablierung von Krankheitsmodellen, die auch zur Testung neuer Wirkstoffe verwendet werden können. Einige neue hES-Zelllinien sind dabei unter Bedingungen hergestellt worden, die sie für den Einsatz in klinischen Studien qualifizieren (sog. clinical grade cell lines). Diese sind beispielsweise nicht mit tierischen Produkten in Berührung gekommen. Die meisten der derzeit auf der Basis von hES-Zellen durchgeführten klinischen Studien basieren allerdings auf älteren Zell-Linien, die ursprünglich für Forschungszwecke hergestellt und erst später an klinische Erfordernisse angepasst wurden (siehe Kapitel 2.5.4, Tabelle: hES-Zelllinien, die in klinischen Studien verwendet werden).

Der Trend, mit wenigen hES-Standardzelllinien zu arbeiten, spiegelt sich auch in Deutschland wider. Das lässt sich aus dem Register über Genehmigungen zur Einfuhr und Verwendung von hES-Zelllinien nach § 11 StZG ablesen. In den 27 neuen Genehmigungen im Berichtszeitraum sollen fast immer, bis auf eine Ausnahme, etablierte Standardzelllinien (Thomson-Zelllinien) wie H1 und H9 vom WiCell Research Institute, Madison, WI, USA verwendet werden (Cyranoski, 2018a; Thomson et al., 1998). Nur in acht der genehmigten Projekten werden ausschließlich die ursprünglichen Thomson-hES-Zelllinien benutzt. Alle anderen Projekte beinhalten auch Experimente mit Zelllinien aus Cambridge (Harvard, USA), Singapur und Israel sowie Cambridge, Sheffield und Newcastle (UK).

Für die Kultivierung von hES- und hiPS-Zelllinien werden heutzutage routinemäßig chemisch definierte, xenogenfreie Medien und Wachstumsfaktoren verwendet. Hier hat es wenige neue Entwicklungen gegeben, zahlreiche Fortschritte wurden hingegen bei der Zellkulturtechnik erreicht. Insbesondere gilt das für die Differenzierung von hiPS-Zellen in verschiedene spezialisierte Zelltypen. Protokolle in diesem Bereich werden stetig optimiert, und teilweise werden neue Faktoren oder neue Behandlungsregime beschrieben.

2.3 Aktuelle Aspekte zur Forschung mit humanen embryonalen Stammzellen

Die folgenden Kapitel geben für die Jahre 2016 und 2017 einen Überblick über wichtige Entwicklungen und Fortschritte in der Forschung mit hES-Zellen und hiPS-Zellen Stammzellen. Beide Zelltypen werden zusammengefasst als humane pluripotente Stammzellen (hPS-Zellen) bezeichnet. Einen Überblick über den Umfang und den Impact der Forschung mit menschlichen pluripotenten Stammzellen ist vor kurzem veröffentlicht worden (Guhr et al., 2018).

2.3.1 Erkenntnisse aus dem Vergleich von humanen ES- und Maus-ES-Zellen und Merkmalen von pluripotenten Stammzellen

Die Frage nach der Vergleichbarkeit von humanen ES-Zellen und ES-Zellen der Maus (murine ES-Zellen, mES-Zellen) wurde bereits im siebten Erfahrungsbericht intensiv diskutiert. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass mES-Zelllinien einen stärker ursprünglichen, naiven Zustand („naive state“) in der Embryogenese repräsentieren. Generell zeigen die etablierten hES-Zellen dagegen einen weiter fortgeschrittenen, sogenannten „bestimmten“ embryonalen Zustand („primed state“), der im System der Maus eher den Stammzellen aus dem Epiblast entspricht. Der Epiblast entsteht nach der Einnistung (Implantation) der Blastozyste in die Gebärmutterwand, also einem fortgeschrittenen Entwicklungsstadium.

2.3.1.1 Merkmale humaner pluripotenter Stammzellen

Bereits 2014 konnten mehrere Forschergruppen zeigen, dass auch im humanen System Stammzellen im naiven Zustand isoliert und kultiviert werden können (zusammengefasst in Li und Belmonte, 2017). Pluripotenz beschreibt also einen Zustand, der im frühen humanen Embryo übergangsweise vorkommt und in embryonalen Stammzellen oder in iPS-Zellen unter definierten Kulturbedingungen nahezu rekapituliert werden kann. Dieser Zustand wird durch das Zusammenspiel eines Netzwerks von pluripotenz-assoziierten Genen mit externen Signalen hergestellt und kontrolliert die Selbsterneuerung und Differenzierung. Für diese Kontrolle spielen die Regulation der Genexpression durch transkriptionelle und epigenetische Prozesse sowie posttranskriptionelle Ereignisse wie die Regulation der RNA- und Protein-Stabilität und der Translationsrate entscheidende Rollen. Die Existenz eines naiven Zustands gegenüber einem primed-Zustand weist also auf alternative Pluripotenz-Zustände hin und verdeutlicht die Plastizität des genregulatorischen Netzwerks in pluripotenten Stammzellen. Die Aufklärung dieser alternativen Zustände und der zugrundeliegenden Mechanismen führt zu neuen Erkenntnissen in der Entwicklungsbiologie des Menschen und bietet Möglichkeiten für die regenerative Medizin (Sagi und Benvenisty, 2016).

Im Berichtzeitraum ist eine Vielzahl von neuen Erkenntnissen zum naiven Zustand von hPS-Zellen publiziert worden, die mit Ergebnissen zu murinen Zellen verglichen wurden. Dabei wurden oftmals hES- und hiPS-Zellen äquivalent eingesetzt, sodass eine Unterscheidung der Daten nicht sinnvoll ist. Später wird in diesem Bericht auf die Unterschiede bzw. die Vergleichbarkeit dieser Zelltypen kurz eingegangen. Die Forschergruppe um Thorold Theunissen und Rudolf Jaenisch legte 2016 eine umfassende Analyse der molekularen Kriterien vor, die eine Grundlage für die zukünftige Forschung zur naiven humanen Pluripotenz bietet (Theunissen et al., 2016). Die Autoren beschreiben eine einzigartige Signatur von sog. springenden DNA-Sequenzen (Transposons) in frühen Embryonalstadien sowie eine genomweite DNA-Demethylierung in naiven hES-Zellen, die im Allgemeinen reversibel ist. Allerdings werden sowohl naive als auch primed hES-Zellen nach Injektion in einen frühen Mausembryo im Morula- oder Blastozystenstadium nur sehr ineffizient integriert. Während viele Forscher den naiven Zustand in kultivierten Zelllinien zu erreichen versuchen, ist es Wissenschaftlern der Universität Cambridge erstmals gelungen, naive hPS-Zellen direkt aus einem menschlichen Embryo zu gewinnen (Guo et al., 2016). Die Autoren postulieren, dass die Herstellung und Erhaltung der Pluripotenz bei Säugetieren eine stufenweise Progression und keinen einheitlichen Zustand darstellt. In einer weiteren Studie konnte gezeigt werden, dass sich ein naiver Zustand auch direkt bei der Reprogrammierung von Gewebezellen erreichen lässt (Kilens et al., 2018).

2.3.1.2 Merkmale pluripotenter Stammzellen

Proteine auf der Oberfläche von Zellen lassen sich mit geeigneten Antikörpern erkennen. Die Antikörper docken gezielt an bestimmte Oberflächenproteine an und ermöglichen dadurch die Isolierung von Zellen. Derartige Oberflächenproteine, die spezifisch für eine Zellpopulation sind, werden als Biomarker bezeichnet. Die im Berichtszeitraum gelungene Identifizierung von Zelloberflächenproteinen, die im naiven Zustand der Pluripotenz vorhanden und beim Übergang zum primed-Stadium nicht mehr nachweisbar sind, erlaubt nunmehr die Isolierung, Anreicherung und Charakterisierung von naiven Zellen und intermediären Zellpopulationen (Collier et al., 2017).

Die Inaktivierung des X-Chromosoms ist einer der zentralen Mechanismen in der frühen Entwicklung von Säugetieren (Theunissen et al., 2016). Da die Gendosis beider X-Chromosomen zu hoch ist, muss eines der X-Chromosomen in den Zellen weiblicher Säugetiere bereits in einem frühen Entwicklungsstadium inaktiviert werden. Die Expression der auf einem Chromosom befindlichen Gene ist − wie auch in den Zellen männlicher Tiere, die nur über ein X-Chromosom verfügen − ausreichend. Die Inaktivierung eines der X-Chromosomen ist ein zentraler Regulationsmechanismus in weiblichen embryonalen Zellen und Gegenstand eingehender Untersuchungen, wobei nicht in jeder Zelle das gleiche X-Chromosom inaktiviert wird. In primed hPS-Zellen ist bereits ein X-Chromosom deaktiviert, während in den meisten murinen PS-Zellen noch beide Chromosomen aktiv sind. Die Untersuchung von Kulturbedingungen, die hPS-Zellen in den naiven Zustand überführen, offenbarte, dass zwei verschiedene Kompensationsmechanismen in der frühen menschlichen Entwicklung existieren (Sahakyan et al., 2017). Ein Mechanismus, der bereits seit den frühen 1990er Jahren bekannt ist, basiert auf dem Gen Xist, welches auf dem inaktiven Chromosom angeschaltet ist und über eine RNA das entsprechende Chromosom inaktiviert. Daneben existiert ein weiterer Mechanismus, der unabhängig von der Xist-RNA ist, die Genexpression des gesamten X-Chromosoms drosselt und der Funktion von Xist vorgeschaltet ist. Die genaue Aufklärung dieser Prozesse ist für die zukünftige Kultivierung naiver hPS-Zelllinien von zentraler Bedeutung.

Das Onkoprotein MYC ist einer der Faktoren, der ursprünglich zur Reprogrammierung von Maus-Zellen zu iPS-Zellen genutzt wurde (Takahashi und Yamanaka, 2006). MYC spielt eine wichtige Rolle bei der Erhaltung der Pluripotenz, indem es einen ruhenden (dormanten) Zustand blockiert. Dieser Zustand ist mit dem Status der Diapause vergleichbar, einer Phase ausgeprägter Entwicklungsruhe, bei der in der Maus-Embryogenese die gesamte Entwicklung vorübergehend angehalten werden kann, beispielsweise, wenn bei einer trächtigen Maus der vorherige Wurf noch gesäugt wird. Ein ähnlicher Zustand ist bei den meisten Säugetieren nicht beschrieben. Dennoch deuten Befunde darauf hin, dass MYC eine zentrale Rolle in der Kontrolle der Pluripotenz bei allen Säugetieren spielt. MYC kontrolliert die biosynthetische Maschinerie von Stammzellen und die Regulation des Zellstoffwechsels (Metabolismus). Dabei beeinflusst es nur den Ein- und Austritt der Stammzellen aus dem ruhenden Zustand, allerdings nicht die Potenz der Stammzellen, sich in verschiedene Zelltypen zu entwickeln (Scognamiglio et al., 2016). Im Zusammenhang mit der Kontrolle des Zellstoffwechsels durch MYC konnte gezeigt werden, dass MYC und ein weiteres Mitglied der MYC-Proteinfamilie, MYCN, die Glykolyse in humanen pluripotenten Stammzellen aufrechterhalten. Pluripotente Stammzellen in Säugetieren decken ihren Energiebedarf im Wesentlichen durch Glykolyse. Die Glykolyse ist die anaerobe Verstoffwechslung von Glukose, stellt also, im Gegensatz zur oxidativen Phosphorylierung, Energie auch in Abwesenheit von Sauerstoff zur Verfügung. Die Differenzierung zum Entoderm (inneres Keimblatt des Embryos) und zum Mesoderm (mittleres Keimblatt) erfordert eine reduzierte Aktivität von MYC und der Glykolyse, während die Bildung des Ektoderms (äußeres Keimblatt) die Aufrechterhaltung der MYC-Aktivität und des glykolytischen Metabolismus voraussetzt. MYC und MYCN verbinden daher den Stoffwechsel mit der Differenzierung während der frühen Entwicklungsphase (Cliff et al., 2017; Gu et al., 2016). Es wurde gezeigt, dass die Veränderungen im Stoffwechsel spezifisch für die Differenzierung der Keimblätter sind und keinen notwendigen Schritt für den Austritt der hPS-Zellen aus der Pluripotenz darstellen (Cliff et al., 2017). LIN28-Proteine, welche ebenfalls die Regulation der Pluripotenz beeinflussen, binden an spezifische Boten-RNAs (mRNAs) und kontrollieren ihre Translation in Proteine. Sie werden für die Reprogrammierung benötigt, binden an metabolische Gene und regulieren die mitochondriale Funktion sowie den Kohlenstoffmetabolismus und die Histon-Methylierung (Zhang et al., 2016). Dies deutet auf eine posttranskriptionale Regulation der metabolischen Aktivität in den Stammzellen hin, die auch den Übergang vom naiven in den primed-Zustand beeinflusst. Wie oben erwähnt, ist der primed-Zustand der Pluripotenz mit einer hohen Glykolyse und einer reduzierten oxidativen Phosphorylierung assoziiert (Cliff et al., 2017).

Eine bemerkenswerte Innovation in diesem Bereich war die Gewinnung von haploiden pluripotenten Stammzellen. In haploiden Zellen ist nur ein Erbgutsatz vorhanden, es existiert von jedem Gen nur eine Kopie. Sagi et al. gelang es erstmals, haploide hES-Zellen herzustellen, um die Funktion und Aktivität von Genen direkt untersuchen zu können. Überraschenderweise reicht ein haploides menschliches Genom in Stammzellen aus, um den undifferenzierten pluripotenten Zustand zu erhalten. Es ist ebenfalls hinreichend, um die verschiedenen Zell-Schicksale nach der Differenzierung in verschiedene Zelltypen zu erhalten. Durch Ausschalten oder Einfügen von Mutationen können hier direkt alle Funktionen eines bestimmten Gens ermittelt werden, ohne dass das zweite Allel mutiert werden muss. Die Autoren demonstrierten, dass haploide hPS-Zellen als Plattform für die funktionelle Genanalyse verwendet werden können (Sagi et al., 2016).

2.3.1.3 In-vitro-Analyse der frühen Embryogenese mithilfe pluripotenter Stammzellen

Einige im Berichtszeitraum publizierte Studien widmeten sich der frühen Embryogenese im Säugetier. Diese Arbeiten wurden meist mit murinen ES-Zellen durchgeführt, dürften allerdings zukünftig auch für entsprechende Versuche mit hPS-Zellen relevant werden (Harrison et al., 2017; Kime et al., 2018; Rivron et al., 2018). Einer britischen Forschergruppe gelang es, murine Blastozysten herzustellen, indem sie mES-Zellen mit Trophoblasten-Stammzellen kombinierte. Trophoblasten bilden das extraembryonale Gewebe des Embryos, aus dem sich beispielsweise die Plazenta entwickelt. Die Studie zeigt, dass sich verschiedene Stammzelltypen in vitro selbstständig organisieren können, um Embryonen zu erzeugen, deren Morphogenese, Architektur und Zelltypen denen natürlicher Embryonen ähneln (Harrison et al., 2017). Zwei weitere Studien demonstrierten, dass Stammzellen in der Maus generiert werden können, die eine höhere Potenz als normale mES-Zellen aufweisen und sowohl zu embryonalen als auch zu extraembryonalen Geweben beitragen können (Yang et al., 2017a; 2017b). Diese Ergebnisse stellen einen ersten Schritt zur Gewinnung pluripotenter Stammzellen mit extraembryonalen Entwicklungspotenzialen in der Kultur dar und eröffnen neue Wege für die Forschung. Dadurch könnten Experimente mit hPS-Zellen zur Erforschung der frühen menschlichen Embryonalentwicklung möglich werden. Vorarbeiten dazu sind bereits publiziert (Tewary et al., 2017).

Zusammenfassend lässt sich für den Vergleich der verschiedenen pluripotenten Zelllinien festhalten, dass verschiedene Zustände von Pluripotenz in Stammzellen im Berichtszeitraum intensiv untersucht wurden und der naive Zustand in der humanen frühen Entwicklung wesentlich genauer verstanden wurde. Außerdem wurden Studien zur Inaktivierung des X-Chromosoms vorangetrieben und bedeutende Erkenntnisse zur Regulation des Stoffwechsels in Stammzellen gewonnen.

2.3.2 Unterschiede zwischen hES-Zelllinien und zwischen hES- und hiPS-Zellen

Wie vergleichbar sind verschiedene humane pluripotente Zelllinien, also hES-Zelllinien untereinander und hES- mit hiPS-Zelllinien? Diese Fragestellung, die bereits im siebten Stammzellbericht ausführlich dargestellt wurde, soll hier nicht weiter thematisiert werden. Es ist weitgehend Konsens in der Forschergemeinde, dass hES-Zellen und hiPS-Zellen in vielerlei Hinsicht äquivalent sind. Unterschiede zwischen den verschiedenen humanen pluripotenten Stammzelllinien sind großenteils auf verschiedene genetische Grundlagen der Genome und Kulturbedingungen zurückzuführen (Li und Belmonte, 2017). Allerdings werden die verschiedenen Stadien der Pluripotenz, der naive und der primed-Zustand, wie bereits beschrieben, intensiv untersucht. Diese unterschiedlichen Zustände können in hES-Zellen und in hiPS-Zellen gleichermaßen induziert werden. Weiterhin werden hES-Zellen, über ihre Verwendung als eigenständiger Forschungsgegenstand hinaus, aber natürlich als Referenzmaterial für die Untersuchung der Pluripotenz und der Differenzierung von induzierten pluripotenten Stammzellen genutzt.

Auch in den meisten laufenden klinischen Studien werden hES-Zelllinien eingesetzt (siehe 2.5.4). Hauptsächlich in Japan werden auch Studien mit hiPS-Zelllinien durchgeführt, da die Reprogrammierungs-Technologie aus dem japanischen Labor von Shinya Yamanaka (Takahashi und Yamanaka, 2006; Takahashi et al., 2007) stammt. Weltweit sind viele der aktuellen klinischen Studien zwischen 2005 und 2010 geplant worden, zu einer Zeit, als hiPS-Zelllinien noch nicht in ausreichender Qualität für klinische Versuche zur Verfügung standen. Ein weiteres Problem, das bei hiPS-Zelllinien offenbar häufiger als bei hES-Zelllinien auftritt, sind Mutationen in der Erbinformation, die u. a. auf das höhere biologische Alter von hiPS-Zellen zurückzuführen sind. Da die für die Reprogrammierung genutzten Zellen häufig aus Probanden/Patienten gewonnen werden, haben sich in diesen Zellen teilweise Mutationen angesammelt, die dann auch in den aus ihnen gewonnenen hiPS-Zellen präsent sind. In Japan ist daher auch eine klinische Studie zur Heilung von altersbedingter Makuladegeneration vorübergehend gestoppt worden, da zuvor nicht detektierte Mutationen im Zellmaterial identifiziert wurden. Das Risiko einer Tumorentstehung oder anderer Fehlentwicklungen erschien zu hoch (Mandai et al., 2017). Da die Mutationen mit dem hohen Alter des Patienten zusammenhängen können und folglich die Nutzung von

dessen eigenen (autologen) reprogrammierten Zellen ggf. risikobehaftet ist, wurde dazu übergegangen, fremde (allogene) Zellen von Spendern zu reprogrammieren und die aus diesen differenzierten Zellen zu transplantieren. Diese Studie und weitere Befunde deuten darauf hin, dass der Aufbau von Stammzellbanken mit genetisch jungen Zellen von Spendern ein wichtiger Schritt auf dem Weg zu zellbasierten Therapien sein wird (siehe Kapitel 2.5.3).

2.3.3 Genetische Anomalien in hES- und hiPS-Zellen

Über den Befund von Mutationen in den klinisch eingesetzten hiPS-Zellen in Japan hinaus sind einige weitere bemerkenswerte Publikationen zu genetischen Anomalien in Stammzellen erschienen. In pluripotenten Stammzelllinien entstehen durch die Kultivierung oft Aneuploiden bzw. Trisomien (Baker et al., 2016; Lamm et al., 2016). Es wurde berichtet, dass dies oft die Chromosomen 1, 12, 17 und 20 betrifft und Zellen darauf überprüft werden sollten, bevor sie für als Ausgangsmaterial für klinisch genutzte Zellprodukte verwendet werden (Baker et al., 2016). Auch der Verlust des Imprinting, also der Verlust der spezifischen Regulation von Genen der mütterlichen oder väterlichen Linie, ist in kultivierten hPS-Zelllinien zu beobachten. Das Imprinting wird durch die Methylierung der DNA von einem Elternteil gewährleistet. Unter Zellkulturbedingungen kann diese spezifische Methylierung nicht aufrechterhalten werden, wobei der Verlust des Imprinting in hiPS-Zellen häufiger war als in hES-Zellen (Bar et al., 2017).

Weitere relevante Veränderungen, die in kultivierten hPS-Zellen teils zu beobachten sind, sind der Verlust einer Kopie (Amir et al., 2017) oder das Auftreten von dominant-negativen Mutationen (Merkle et al., 2017) des Tumorsuppressor-Gens p53. Das p53-Protein kontrolliert den Zellzyklus und kann in Situationen, die mit einer kritischen Zunahme von Mutationen verbunden sind, den programmierten Zelltod (Apoptose) einleiten (zusammengefasst in Kastenhuber und Lowe, 2017). Mutationen im p53-Gen führen zu einem deregulierten Zellzyklus, und die mutierten Zellen haben einen Wachstumsvorteil, im allgemeinen auf Kosten der Genomintegrität, was zur Entstehung von Tumoren führen kann. Allerdings wurde der p53-Status in mehr als 250 hPS-Zelllinien analysiert, und nur ca. 5% der Zelllinien weisen Veränderungen in diesem Gen auf (Merkle et al., 2017). Kwon et al. berichten, dass die Reprogrammierung selbst keine Mutationen auslöst (Kwon et al., 2017), während andere Autoren eine Vielzahl reprogrammierungsbedingter Mutationen detektierten, die offenbar auf oxidativen Stress bei der Reprogrammierung zurückzuführen waren und größtenteils nicht-proteincodierende Regionen des Genoms betrafen (Yoshihara et al. 2017). Dennoch scheint für die häufig beobachtete hohe Variabilität zwischen verschiedenen hiPS-Zell-Linien die genetische Variabilität zwischen verschiedenen Spendern maßgeblicher zu sein als die genetischen und epigenetischen Veränderungen infolge der Reprogrammierung (Kyttälä et al., 2016). Die Forschungsgruppe um Manuel Serrano hat weiterhin gezeigt, dass auch die Zellalterung (Seneszenz), die u. a. von p53 kontrolliert wird, die Reprogrammierung beeinflusst (Mosteiro et al., 2016). Aufgrund der beschriebenen Befunde muss also der Status dieses Tumorsupressors vor der weiteren Anwendung von hPS-Zellen genauestens untersucht werden.

2.3.4 Verfahren zur gezielten gentechnischen Modifikation embryonaler Stammzellen

Die Bereitstellung von neuen und effektiven Werkzeugen für die gezielte Veränderung des Genoms von lebenden Zellen ist eine bahnbrechende Entwicklung in der Biotechnologie – sie beeinflusst auch die Stammzellforschung auf entscheidende Weise. Zur sogenannten Genom-Editierung geben bereits die vorangegangenen Stammzellberichte Auskunft. Auch in den Jahren 2016 und 2017 sind in diesem Forschungsfeld wichtige Fortschritte erzielt worden (zusammengefasst in Fehse, 2018; Hockemeyer und Jaenisch, 2016). Eine neue Generation von Designer-Nukleasen erlaubt eine hochpräzise Modifikation des Genoms, etwa die Einführung von Punktmutationen in spezifische Gene sowie das Entfernen und Einschleusen von Genregionen oder Genen. Zinkfinger-Nukleasen zählten zur ersten Klasse der Designernukleasen, sie werden heute allerdings kaum noch verwendet. Diese wurden durch die Transkriptions-Aktivatoren-ähnlichen Effektornukleasen (TALEN) und durch das CRISPR/Cas9-System abgelöst. CRISPR ist die Abkürzung für „Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats“ und Cas9 für CRISPR-assoziiertes Protein 9. Diese Technologien beruhen auf Systemen, die sich evolutionär in Bakterien zur Abwehr von Phagen, Viren und sonstigen fremden DNA-Sequenzen entwickelt haben. Nach ihrer Erforschung in Bakterien wurden diese Systeme technologisch für die Veränderung von eukaryotischen Zellen weiterentwickelt. Genom-Editierungs-Technologien wurden in einem kürzlich erschienenen Diskussionspapier der Nationalen Akademie der Wissenschaften Leopoldina unter ethischen und rechtlichen Gesichtspunkten behandelt, insbesondere mit Blick auf ihre Anwendung in humanen Zellen (Bonas et al., 2017).

Die wichtigste und häufigste Anwendung dieser Systeme zur Genom-Editierung ist die Veränderung von Stammzellen in der Zellkultur (zusammengefasst in Merkert und Martin, 2018). Hierdurch lassen sich gezielt

Mutationen oder Gene einfügen, entfernen oder gar reparieren. Als Schwierigkeit beim Einsatz dieser Systeme, insbesondere der CRISPR/Cas9-Systeme, gilt das Entstehen von unerwünschten Mutationen an weiteren Stellen des Genoms außerhalb der Zielregion (Off-Target-Effekte). Während in einer mittlerweile zurückgezogenen Publikation zahlreiche Off-Target-Mutationen beschrieben wurden (Schaefer et al., 2017), kommen viele andere Autoren zu dem Schluss, dass die Verwendung der CRISPR-Technologie auch bei Stammzellen sehr präzise funktioniert, keine detektierbaren Off-Target-Effekte auftreten (Kleinstiver et al., 2016; Tsai und Joung, 2016) und das System gleichwohl weiter optimiert werden kann (Komor et al., 2016; Slaymaker et al., 2016).

Unter Verwendung der CRISPR/Cas9-Technologie sind verschiedene Experimente auf der Basis von Stammzellen oder anderen Zellarten durchgeführt worden, von denen hier nur einige beispielhaft benannt werden sollen:

- Bestimmung von Zelldifferenzierungen in verschiedenen Entwicklungslinien im gesamten Organismus, basierend auf Genom-Editierung (McKenna et al., 2016);
- Zielgerichtete Reparatur von Mutationen im Dystrophin-Gen (DMD), die ursächlich für Muskeldystrophien, beispielsweise Duchenne, sind, in hiPS-Zellen von Patienten sowie Ableitung von funktionsfähigen Muskelzellen (Young et al., 2016);
- Zielgerichtete In-vivo-Reparatur von Genen in Zellen von ausgewachsenen Mäusen als Vorstufe zur direkten Reparatur von Krankheitsgenen im Menschen (Suzuki et al., 2016);
- Entwicklung einer kombinierten Strategie für die Transplantation von menschlichem Lebergewebe in ein Mausmodell für chronische Lebererkrankungen, um eine begrenzte Zellmasse nach Implantation effizienter einzusetzen (Stevens et al., 2017);
- Optimierung der Gewinnung von roten Blutzellen (Erythrozyten) aus humanen hämatopoetischen Stammzellen durch die Inaktivierung eines negativen Regulators bei der Produktion von Zytokinen (Giani et al., 2016);
- Zielgerichtete Reparatur des β-Globin-Genes in humanen hämatopoetischen Stammzellen, um Sichelzellenanämie zu behandeln (Dever et al., 2016; Traxler et al., 2016).

Während sich im Berichtszeitraum nur noch sehr wenige Publikationen auf das Zinkfinger-System stützten, wurde in den Laboren mit überwiegender Mehrheit das CRISPR/Cas9-System eingesetzt. Die TALEN-Technologie wird auch weiterhin in einigen Studien verwendet (Karakikes et al., 2017; Merkert et al., 2017).

2.3.5 Entwicklung von Keimzellen aus Stammzellen

Die Herstellung von Keimzellen aus pluripotenten Stammzellen ist ein dynamisches Forschungsfeld, in dem auch in der Berichtsperiode weitere Fortschritte erzielt werden konnten. Im murinen System ist die Herstellung von reifen Eizellen (Oozyten) komplett in der Zellkultur beschrieben worden (Hikabe et al., 2016). Zhou et al. zeigten, dass in vitro auch murine Spermatiden-ähnliche Zellen entwickelt werden können, mit denen Mäuse gezeugt werden können (Zhou et al., 2016). Stammzellbasierte Studien zur frühen Embryogenese im Mausmodell wurden bereits vorgestellt.

2.3.6 Generierung von chimären Tieren durch Embryoaggregation mit ES- / iPS-Zellen

Aufgrund der Möglichkeit zur Untersuchung der frühen Embryogenese und Regeneration bieten Interspezies-Chimären eine einzigartige Plattform für spezifische Forschungsfragestellungen. Obwohl eine effiziente Erzeugung von chimären Embryonen aus humanen pluripotenten Stammzellen und tierischen Zellen schwierig ist, gibt es Versuche, Inkompatibilitäten in der Gewinnung und der Kombination xenogener Gewebe zu überwinden (Suchy und Nakauchi, 2018).

Mittlerweile ist die erfolgreiche Erzeugung von Chimären aus hiPS- bzw. hES-Zellen und Mausblastozysten gelungen. Dazu müssen das Entwicklungsstadium der menschlichen Stammzellen und das Embryonalstadium der murinen Blastozyste aufeinander abgestimmt werden. Die erfolgreiche Chimärenbildung lieferte den Nachweis dafür, dass hPS-Zellen auch in einem sich entwickelnden Embryo pluripotent sind und zur Entwicklung aller drei Keimblätter beitragen können. Es zeigte sich auch, dass hPS-Zellen nicht nur mit Embryonen nahe verwandter Arten wie beispielsweise mit anderen Primaten Chimären bilden können, sondern auch mit Embryonen evolutionär entfernterer Nagetierarten (Mascetti und Pedersen, 2016). Eine neue Studie, in denen hiPS-Zellen zur Erzeugung von Chimären in verschiedenen Spezies genutzt wurden, berichtete, dass 1.) die Injektion naiver PS-Zellen aus der Ratte in Mausblastozysten einen sehr hohen Grad an Chimärismus zur Folge hatte, allerdings nicht in Embryonen von Schweinen; 2.) für die Erzeugung von Chimären ein neues CRISPR/Cas9-

System zur Genom-Editierung entwickelt wurde und 3.) mit speziellen hiPS-Zellen, die ein intermediäres Entwicklungsstadium zwischen dem naiven und dem primed-Zustand („Intermediate“) darstellen, ein höherer Grad an Chimärismus in Schweine-Embryonen erreicht werden konnte als mit naiven hiPS-Zellen (Wu et al., 2017a).

Die Forscher um Jun Wu und Juan-Carlos Ispizua Belmonte verwendeten ein eigens entwickeltes CRISPR/Cas9-System, um in Zygoten vom Schwein Gene abzuschalten, welche die Organentwicklung der Bauchspeicheldrüse steuern (Wu et al., 2017b). So lassen sich nun Schweine ohne Pankreas generieren, die für Komplementierungs-Experimente mit humanen Pankreaszellen auch in Form von 3D-Organoiden (siehe Kapitel 2.5.2) genutzt werden können, um beispielsweise Erkrankungen des Menschen zu studieren.

2.4 Erschließung neuer Quellen menschlicher Stammzellen

Wie bereits im siebten Stammzellbericht beschrieben, können humane pluripotente Stammzellen derzeit aus extrakorporal erzeugten Embryonen (ES-Zellen), aus parthenogenetisch erzeugten Embryonen, durch Reprogrammierung (iPS-Zellen) und durch Kerntransfer (hNT-ES-Zellen) gewonnen werden. Letztere sind Stammzellen, die durch eine Übertragung des Zellkerns einer Gewebezelle in eine entkernte menschliche Eizelle gewonnen wurden (Somatischer Zellkern-Transfer, SCNT – somatic cell nuclear transfer). Insbesondere die Forschergruppe um Shoukhrat Mitalopov, die die Gewinnung von hNT-ES-Zellen beim Menschen erstmals beschrieben hatte (Tachibana et al., 2013), forscht weiter intensiv an diesem Zelltyp und erachtet hNT-ES-Zellen als vorteilhafter für die Entwicklung von therapeutischen Anwendungen (Wolf et al., 2017).

In der Stammzellforschergemeinde ist dieser Weg umstritten, da einerseits die Herstellung dieser Zellen sehr anspruchsvoll ist. Andererseits sind die Herstellung von hNT-ES-Zellen nach dem Embryonenschutzgesetz und die Verwendung dieser Zellen nach dem Stammzellgesetz in Deutschland untersagt. Die Forschung an hNT-ES-Zellen wird auch in vielen anderen Ländern vorerst nachrangig bleiben, wenn sich nicht signifikante Vorteile in klinischen Studien mit diesen Zellen ergeben.

Es wird weiter intensiv an Stammzellen in verschiedenen Geweben geforscht und Berichte von unterschiedlichen Stammzellpopulationen in verschiedenen Organen und Geweben werden häufig publiziert. Hierbei handelt es sich meist um Studien, die Stamm- und Vorläuferzellen – sogenannte Progenitoren – neu einordnen oder neue Differenzierungspfade für Stammzellpopulationen beschreiben.

2.4.1 Gewinnung humaner embryonaler Stammzellen aus PID-Embryonen

Die Gewinnung von hES-Zellen aus überzähligen Embryonen aus der Präimplantationsdiagnostik (PID), die genetische Anomalien aufweisen und daher nicht transferiert wurden (sog. PID-Embryonen), ist im siebten Stammzellbericht detailliert beschrieben worden. Solche hES-Zelllinien dienen der Erforschung von Entwicklungsdefekten und können für die Etablierung von Krankheitsmodellen genutzt werden. Die Firma Genea Biocells bietet inzwischen ca. 150 hES-Zelllinien an, die genetische Veränderungen aufweisen, die mit mehr als 30 Erkrankungen assoziiert sind, und die teils im NIH-Register und im hPSC-Register der Europäischen Union (hPSCreg) geführt werden (Genea Biocells, 2018). Weitere Sammlungen derartiger Zellen bieten das Tel Aviv Sourasky Medical Center und das King’s College London mit jeweils über 40 Zelllinien an, die ebenfalls zum großen Teil im NIH-Register (National Institutes of Health, 2018) aufgeführt sind. In Deutschland kann mit solchen Linien aufgrund des Stammzellgesetzes (StZG) nicht geforscht werden, da diese Zellen meist nach dem Stichtag (1. Mai 2007) hergestellt worden sind und die Spende der Embryonen für die Forschung aus Gründen erfolgte, die an den Embryonen selbst liegen (vergl. § 4 Absatz 2 Nummer 1 Buchstabe a und b).

2.4.2 Gewinnung von Stammzellen aus Keimzellen und deren Vorläuferzellen

Zur Gewinnung von humanen Stammzellen aus Keimzellen hat es über den Stand aus den vorhergehenden Stammzellberichten hinaus nur wenige neue wissenschaftliche Entwicklungen gegeben.

2.4.3 Fötale Stammzellen

Im Zeitraum 2016/17 gab es wenige Studien, die signifikante wissenschaftliche Weiterentwicklungen mit humanen fötalen Stammzellen beschrieben haben. Zellen aus fötalem Gewebe, meist nicht Stammzellen, sondern in ihrer Entwicklung bereits weiter vorangeschrittene Vorläuferzellen (Progenitoren_, werden allerdings weiter in einer Vielzahl von klinischen Studien eingesetzt. Für die Aufklärung der Prozesse der menschlichen Embryonal- und Fötal-Entwicklung wird international in einigen Studien mit Zellmaterial aus menschlichen Föten gearbeitet. In Verbindung mit der Einzelzellanalyse (siehe Kapitel 2.5.2) wurde ein Atlas der Vorgänge in der Genregulation während der Entwicklung erstellt (Petropoulos et al., 2016). Eine ähnliche Studie untersucht die

neuronale Embryonalentwicklung und vergleicht die Genexpression in Embryonen und Föten mit in vitro differenzierten Stammzellen (La Manno et al., 2016). Das Register clinicaltrials.gov verzeichnet über 400 klinische Studien mit fötalen Zellen, davon etwas mehr als 40 mit fötalen Stammzellen, beispielsweise hämatopoetischen und mesenchymalen Stammzellen.

2.4.4 Fortschritte in der Reprogrammierung von Körperzellen

Vor 12 Jahren hat das Verfahren der Reprogrammierung von Körperzellen die Stammzellforschung grundlegend verändert. Die Hoffnung, nun schnell Therapien mit patienteneigenen (autologen) Zellen für schwerwiegende Erkrankungen entwickeln zu können, hat sich bisher nicht erfüllt, da der Zellersatz sich im Organismus komplexer darstellte als angenommen; allerdings sind hiPS-Zellen inzwischen zu wichtigen Modellen für Krankheiten und die Wirkstoffforschung geworden (Scudellari, 2016). Es wurden wichtige computergestützte Methoden entwickelt, um den Reprogrammierungsprozess durch Rekonstruktion der zugrundeliegenden transkriptionellen Netzwerke vorherzusagen. Diese neuen Technologien haben das Potenzial, die Reprogrammierung erheblich zu optimieren. Auch wenn die Technologie immer noch jung ist, zeichnet sich bereits ab, dass hiPS-Zellen eine Revolution in der regenerativen Medizin einläuten können (Firas und Polo, 2017).

Die Erforschung von hiPS-Zellen und murinen iPS-Zellen war in der Berichtsperiode erneut eines der wichtigsten Forschungsfelder. Die molekularen Prozesse, die der Reprogrammierung zugrunde liegen, werden dabei immer besser verstanden. Ein umfangreicher Screen von 711 hiPS-Zelllinien von 301 verschiedenen Personen machte deutlich, dass bis zu 46% der Variation der phänotypischen Merkmale, einschließlich der Fähigkeit, in verschiedene Linien zu differenzieren, auf genetische Variation zwischen den Individuen zurückzuführen sind. Zusätzlich zur Beschreibung und Quantifizierung des Phänomens der Varianzen bietet diese Studie eine Sammlung von allgemeinen regulatorischen Varianten, um auch Studien mit kleiner Anzahl von iPS-Zelllinien beurteilen zu können (Kilpinen et al., 2017). Die Rolle der Seneszenz in der Regulation der Pluripotenz wurde bereits angesprochen (Kapitel 2.3.3). Es ist gezeigt worden, dass die teilweise Reprogrammierung diese Zellalterung in murinen und humanen Zellen zurücksetzt, wenn die Gene für die Yamanaka-Faktoren wiederholt in den Körperzellen angeschaltet (exprimiert) werden. Die Zellen werden in diesem Prozess nur teilweise reprogrammiert, da sie in vivo nicht in den vollen pluripotenten Zustand versetzt werden. Die Expression der Gene für die Yamanaka-Faktoren führte in einem Mausstamm, der vorzeitig altert, zu einer verbesserten Regeneration, zu einer Verlangsamung der Altersprozesse sowie zu einer verlängerten Lebenszeit (Ocampo et al., 2016). Dieser neue Einblick in die Auswirkungen der Reprogrammierung in vivo könnte für die Entwicklung regenerativer Therapien für Gewebeverletzungen und mit einer krankhaften Vermehrung von Bindegewebe einhergehende (fibrotische) Erkrankungen relevant sein.

Zusammengefasst können Erkenntnisse aus der teilweisen Reprogrammierung von Körperzellen und die Möglichkeit der Reprogrammierung durch äußere Faktoren zu neuen therapeutischen Ansätzen führen. Dies könnte beispielsweise für die Behandlungen von großflächigen Wunden oder nach Narbenbildung im Herzmuskel nach einem Infarkt neue Behandlungsoptionen ermöglichen.

2.4.5 Transprogrammierung und Transdifferenzierung

Ausgehend von einem immer besseren Verständnis der molekularen Vorgänge bei der Reprogrammierung ist es bereits vor mehreren Jahren gelungen, Zellen von einem Typ zu einem anderen „umzuprogrammieren". Zum Beispiel ist es nun möglich, kultivierte adulte Haut- oder Blutzellen nicht nur in einen pluripotenten Zustand zu versetzen, sondern auch direkt in Neuronen, Leber- oder Herzzellen umzuwandeln (zusammengefasst in Mall und Wernig, 2017; 2018). Die direkte Umwandlung mittels Transprogrammierung (Umprogrammierung) hat neue Möglichkeiten in der Forschung geschaffen, was auch schon im Stammzellbericht 2014/15 angeklungen ist. Es gab in diesem Bereich auch in den Jahren 2016/17 vielversprechende Ergebnisse.

Die Gruppe von Marius Wernig an der Stanford University, die zum ersten Mal die direkte Transprogrammierung von Zellen aus der Haut in Nervenzellen beschrieben hatte, legte genauere Analysen zu einem der Faktoren vor, die für die Transprogrammierung wichtig sind. Ohne den Transkriptionsfaktor Myt1l werden in murinen Nervenzellen nicht-neurale Gene aktiviert und die Expression von Genen blockiert, die spezifisch für Nervenzellen sind. Dies lässt den Schluss zu, dass Myt1l die Identität von Nervenzellen der Maus schützt, indem das Genprodukt viele nicht-neuronale Entwicklungen aktiv unterdrückt (Mall et al., 2017).

Mittels neuer Einzelzellanalysetechniken ist es 2016 gelungen, die molekularen Prozesse bei der Transprogrammierung in Nervenzellen aufzuklären. Diese Technologie lässt die Untersuchung praktisch jeder einzelnen Zelle in einer Zellpopulation zu. Es ist bekannt, dass sich nicht alle Zellen in einer Zellpopulation gleich verhalten. Die Einzelzellanalyse wird im Kapitel 2.5.2 vorgestellt. Treutlein et al. zeichnen den Entwicklungsprozess für

jede einzelne Zelle anhand der Genexpressionsdaten im Prozess der direkten Transprogrammierung genau nach und waren in der Lage, eine Analyse aller Übergangszustände und alternativer Entwicklungswege vorzunehmen, die nicht zur Transprogrammierung führen (Treutlein et al., 2016).

Inzwischen sind zahlreiche direkte Transprogrammierungen von Zellen aus einer Entwicklungslinie direkt in Zellen einer anderen Linie beschrieben worden. Dies zeigt die hohe Plastizität des Genoms, das mit den geeigneten Signalen das Zellschicksal spezifisch verändern kann. Dies wird unter physiologischen Umständen im Körper allerdings durch Signale des Gewebes verhindert, sodass es nicht zu ständig wechselnden Veränderungen der Zellen kommen kann. Die Grundlagen für die Transprogrammierung sind in den vorhergehenden Berichten detailliert dargestellt worden. Ein Beispiel aus der aktuellen Berichtsperiode ist die erfolgreiche Transprogrammierung von Bindegewebszellen (Fibroblasten) der Leber in Leberparenchymzellen (Hepatozyten) in der Maus. Diese Transprogrammierung war für Zellen in Kultur bereits beschrieben worden, allerdings kann dieser direkte In-vivo-Transprogrammier-Ansatz neue Wege für die Behandlung von chronischen Lebererkrankungen eröffnen (Song et al., 2016).

Fast alle diese Methoden basieren immer noch auf gentechnischen Verfahren und dem Einschleusen von Genen für spezifische Faktoren in die Zellen, was den Einsatz in Patienten erschwert. Es wird daher verstärkt an Methoden gearbeitet, die eine Transdifferenzierung über chemisch induzierte Prozesse ermöglichen. Substanzen, die spezifische Prozesse in Zellen steuern können, würden dann nur von außen auf die Zellen gegeben. Dieser Ansatz ist besser geeignet, wenn es um die Entwicklung von Therapien geht. Beispiele für solche Studien sind ein pharmakologischer Ansatz zur Transprogrammierung von menschlichen Fibroblasten in funktionelle Herzzellen (Kardiomyozyten) durch kleine Moleküle (Cao et al., 2016) und die direkte Transprogrammierung von Fibroblasten durch chemische Substanzen in extraembryonales Gewebe (Li et al., 2017).

Solche Studien eröffnen in Zukunft möglicherweise Therapieformen, die auf einer direkten Umwandlung von Zellen im Menschen basieren. Nach Organschädigungen könnten so beispielsweise Fibroblasten, die zur Narbenbildung beitragen, instruiert werden, gesunde neue Zellen des betreffenden Organs zu bilden. Dieser Ansatz hätte deutliche Vorteile gegenüber Therapieformen, die auf der Transplantation von Zellen oder ganzer Organe von Spendern beruhen.

2.5 Entwicklung von Therapien und Testmethoden mit hES- und hiPS-Zellen

2.5.1 Weiterentwicklung von Differenzierungsprotokollen humaner pluripotenter Stammzellen

Die Kulturbedingungen für hPS-Zellen sind inzwischen sehr gut optimiert und standardisiert worden. An verbesserten Protokollen für die Differenzierung dieser Zellen in spezialisierte Zelltypen verschiedener Gewebe und Organe wird weiterhin intensiv geforscht. Es lassen sich in diesem Bereich weiterhin Fortschritte beobachten, welche die Entwicklung von sehr spezifischen Gewebezellen oder einen höheren Prozentsatz von reinen Zellpopulationen ermöglichen. Auch die Herstellung von großen Mengen an Zellen, die über den Labormaßstab hinaus in Bioreaktoren produziert werden können, wird intensiv erforscht, da für den Zellersatz im Patienten sehr viele Zellen benötigt werden. Genaue Analysen der molekularen Prozesse, die in der embryonalen Entwicklung ablaufen, sind bei den Studien zur Zelldifferenzierung grundlegend. So konnte beispielsweise der gesamte Verlauf der Entwicklung der Zelllinien des Mesoderms (mittleres Keimblatt) zu Zelltypen wie Skelettmuskel-, Herzmuskel-, Knochen- und Blutzellen aufgeklärt werden und quasi eine „Road Map“ für die Differenzierung angelegt werden, um transplantierbare menschliche Vorläuferzellen zu produzieren und Entwicklungsprozesse weiter zu untersuchen (Loh et al., 2016). Eine ähnliche Analyse liegt auch für alle Zelltypen der ektodermalen Linie (äußeres Keimblatt) vor (Tchieu et al., 2017). Die „Road Maps“ der Differenzierung werden bei der Entwicklung von Testsystemen für Medikamente zukünftig eine wichtige Rolle spielen. Über die Steuerung der Zelldichte in der Kultur lassen sich ebenfalls viele Entwicklungsprozesse steuern, da eine Veränderung von Zell-Zell-Kontakten und die Konzentration von sezernierten Faktoren bei verschiedenen Zelldichten entscheidende Prozesse beeinflussen. Es ist gezeigt worden, dass die Zelldichte Signalübertragungswege in Zellen beeinflusst. Das hat weitreichende Konsequenzen für die Reproduzierbarkeit von Experimenten, auf die Optimierung von Bioprozessen und auf die Vergrößerung des Maßstabes von Herstellungsverfahren („Up-Scaling“) (Kempf et al., 2016). Viele weitere Differenzierungsprozesse im menschlichen Gewebe, beispielsweise bei der Lungenentwicklung (Jacob et al., 2017; Merkert et al., 2017) oder Darmentwicklung (Farin et al., 2016; Tetteh et al., 2016), konnten im Berichtszeitraum weiter aufgeklärt und entsprechende In-vitro-Differenzierungsprotokolle optimiert werden. Teilweise ließen sich aus diesen Versuchen auch Testsysteme für Medikamente (Merkert et al., 2017) und Modelle für Erkrankungen (Jacob et al., 2017) aufbauen.

Die Hämatopoese, also die Entstehung und Entwicklung von Blutzellen, ist ein eingehend erforschter und sehr gut verstandener Prozess. Viele schwerwiegende Erkrankungen wie Blutkrebs und Autoimmunerkrankungen sowie Fragen der Zellalterung betreffen das Blut und die Blutstammzellen (hämatopoetische Stammzellen). Gerade an Krebszellen des Blutes, wie sie bei der akuten myeloischen Leukämie auftreten, lassen sich die verschiedenen Differenzierungsprozesse, die Entartung von Krebszellen sowie die Zellalterung gut untersuchen (zusammengefasst in Basilico und Göttgens, 2017; 2018). Shlush et al. 2017 verfolgten die Ursprünge des Rezidivs (Rückfalls) bei akuter myeloischer Leukämie in den hämatopoetischen Stammzellen. Diese Studie weist erstmals die Existenz von Therapie-resistenten Zellen nach, die auf verschiedenen Wegen entstehen können, und zum Rezidiv bei akuter myeloischer Leukämie beitragen. Dies unterstreicht die Bedeutung einer langfristigen Behandlung, die auch auf diese Zellen auszurichten ist (Shlush et al., 2017).

Neue Untersuchungen im Blutsystem zeigen auch, dass die Differenzierung ein kontinuierlicher Prozess ist, der sich ständig an neue Bedingungen anpasst und sich bei Erkrankungen wie Krebs stark verändern kann. Es scheint keine vorbestimmte Differenzierung zu geben, sondern die Differenzierung passt sich den verschiedenen Bedingungen an. Dies wird auch für Studien der Zelldifferenzierung in anderen Systemen eine Rolle spielen (Velten et al., 2017). Zahlreiche Studien mit hämatopoetischen Stammzellen untersuchen die Funktion des Vitamin A/Retinsäure-Signalweges, der in vielen Zelldifferenzierungen auch außerhalb des Blutsystems eine entscheidende Rolle spielt. Auch hier zeigen sich, wie schon für pluripotente Stammzellen beschrieben (Kapitel 2.3.1.2), enge Verbindungen zwischen der Regulation des Stoffwechsels, der Regulation der Aktivität von Entwicklungsgenen und der Stammzellidentität (Cabezas-Wallscheid et al., 2017; Dou et al., 2016; Ng et al., 2016).

Wichtige Fortschritte sind auch bei der Differenzierung von Blutzellen aus pluripotenten Stammzellen erreicht worden. Mit einem kombinierten Ansatz aus Behandlung mit aktiven Substanzen und der Expression von Genen für sieben Transkriptionsfaktoren, welche die Blutbildung steuern, konnten humane pluripotente Stammzellen erst in Zellen des blutbildenden Endothels und dann zu hämatopoetischen Stamm- und Vorläuferzellen differenziert werden (Sugimura et al., 2017). In einer anderen Studie wurde gezeigt, dass auch die Umwandlung von Endothelzellen der Maus in hämatopoetische Stammzellen durch die erzwungene Expression von Genen, die für bestimmte Transkriptionsfaktoren codieren, möglich ist (Lis et al., 2017). Diese wissenschaftlichen Erkenntnisse können zur Entwicklung von Modellen für hämatopoetische Erkrankungen in humanisierten Mäusen genutzt werden und eröffnen in Zukunft therapeutische Strategien bei genetisch bedingten Bluterkrankungen.

Ein wichtiger Zweig der Forschung an Stammzellsystemen und zur Pluripotenz ist die Untersuchung von Prozessen in Wirbeltieren, die ein hohes Regenerationspotenzial auch im erwachsenen Stadium besitzen wie Amphibien und Fische. Das Labor von Elly Tanaka hat unter Nutzung des Axolotl-Modells offengelegt, welche spezifischen Signalwege die Aktivierung von Stammzellen in differenzierte Muskelzellen während der Regeneration einer Extremität steuern (Wagner et al., 2017). Die Untersuchung dieser Prozesse in Tierarten, die ein hohes Regenerationspotenzial besitzen, lässt auch Rückschlüsse auf Prozesse in Säugetieren zu, die ggf. für die regenerative Medizin bedeutend sein können.

2.5.2 Aufklärung von Differenzierungsmechanismen durch Einzelzellanalyse

Eine sich rasant entwickelnde Technologie, die zur Aufklärung von Entwicklungsprozessen sehr wichtige Daten liefert, ist die Einzelzellanalyse. Die molekulare Analyse von einzelnen Zellen ist durch moderne Hochdurchsatz-Sequenzierungstechniken möglich geworden. Es ist bekannt, dass nicht alle Zellen in einer Zellpopulation sich gleich entwickeln. Verfolgt man das Schicksal vieler einzelner Zellen in der Population, ermöglicht dies ein viel genaueres Verständnis der zugrundeliegenden molekularen Prozesse. In Verbindung mit der Herstellung von dreidimensionalen „organartigen“ Strukturen, den sogenannten Organoiden (siehe Kapitel 2.5.3), hat diese Technologie zur Entwicklung von mechanistischen Modellen der menschlichen Entwicklung und von Krankheiten geführt (Camp und Treutlein, 2017).

Einzelzellanalysen halfen auch bei der Aufklärung von komplexen Entwicklungsmechanismen in der neuronalen Entwicklung aus neuronalen Stammzellen (Llorens-Bobadilla et al., 2015) und hPS-Zellen (Yao et al., 2017) und bei der direkten Transdifferenzierung von Fibroblasten in Neuronen (Treutlein et al., 2016). Auch andere Entwicklungsprozesse wurden mithilfe der Einzelzellanalyse erforscht, so auch jene von Leberzellen (Camp et al., 2017) und der Bauchspeicheldrüse (Wollny et al., 2016). Auch für das Verständnis der Differenzierung humaner hämatopoetischer Stammzellen und die Untersuchung von Krankheiten, die mit Blut in Verbindung stehen, ist die Einzelzellanalyse erfolgreich angewandt worden (Farlik et al., 2016). Basierend auf diesen Methoden in Verbindung mit bioinformatischen Ansätzen zur Verarbeitung großer Datensätze hat ein großes internationales Forscherkonsortium mit Hunderten Biowissenschaftlern aus mehr als 18 Ländern begonnen, einen detaillierten Zellatlas der menschlichen Entwicklung anzulegen. Der Human Cell Atlas soll die Genaktivitäts-

profile aller „gesunden“ menschlichen Zelltypen in nie da gewesener Auflösung erfassen. Auch deutsche Arbeitsgruppen sind an dem ambitionierten Projekt beteiligt (Human Cell Atlas Consortium, 2018; Regev et al., 2017).

2.5.3. Entwicklungen bei stammzell-abgeleiteten Organoiden

Die Herstellung von dreidimensionalen Zellaggregaten oder Organoiden ist im vorangegangenen Bericht eingehend beschrieben worden. Dieses Feld entwickelt sich rasant. Fast täglich erscheinen neue Publikationen zu Organoiden. Sie tragen zum grundlegenden Verständnis vieler Entwicklungsprozesse bei. Zudem sind mit den Organoiden neue Therapieansätze für die Zellersatztherapie denkbar (Bartfeld und Clevers, 2017; 2018).

Die Entwicklung von dreidimensionalen Zellkultursystemen ist nicht neu, allerdings erlauben die modernen Technologien und das zunehmende Verständnis der molekularen Zusammenhänge viel präzisere Protokolle zu ihrer Herstellung (Simian und Bissell, 2017). Die fortschreitenden Verbesserungen dieser Technologien, die u. a. auf der Entwicklung quantitativer Plattformen zur genauen Verfolgung und Messung subzellulärer und molekularer Ereignisse basieren, ebnen den Weg für ein vertieftes Verständnis der komplexen Ereignisse, die bei der embryonalen Entwicklung und bei der Entstehung von Erkrankungen ablaufen (Simunovic und Brivanlou, 2017).

Darm-Organoide („Mini-Guts“) wurden erstmals von Toshiro Sato aus dem Labor von Hans Clevers in den Niederlanden beschrieben (Sato et al., 2009). Das Team um Clevers gilt auch weiterhin als führend in der Entwicklung von Organoiden aus einer Vielzahl von Organsystemen. Neue Studien aus dem Berichtszeitraum zeigen das Potenzial der Organoide, etwa zur Aufklärung von molekularen Vorgängen bei der Entwicklung des menschlichen Magens und der daran beteiligten Signalübertragungsprozesse (McCracken et al., 2017). Der Gruppe um den Forscher James Wells ist es gelungen, aus hPS-Zellen dreidimensionale Darmgewebe mit einem enterischen Nervensystem zu züchten, das die glatte Darmmuskulatur steuert. Die entsprechenden Organoide konnten dann erfolgreich zur Untersuchung einer angeborenen Entwicklungsstörung des Darms, der Hirschsprung-Krankheit, genutzt werden (Workman et al., 2017). In Verbindung mit der Verwendung von modernen Biomaterialien, die eine Matrix für die Zellkultur bilden, konnten die Wachstumsbedingungen für Darm-Organoide weiter verbessert und Langzeitkulturen ermöglicht werden (Gjorevski et al., 2016).

Humane Gehirn-Organoide (zerebrale Organoide), deren Entwicklung auf die grundlegenden Arbeiten von Madeline Lancaster und Jürgen Knoblich in Wien zurückgeht, sind in den Jahren 2016/17 stark zunehmend in den Fokus des Forscherinteresses gerückt. In einer neuen Studie zeigten die Forscher aus Wien nun eine Methode der 3D-Zellkultur mit Biomaterialien, die zu einer hohen Reproduzierbarkeit und einer wesentlich verbesserten Gewebearchitektur führt. Die beschriebene Vorgehensweise ermöglichte zudem Vorderhirn-Organoide, die Zellen eines Reifegrades enthielten, der vorher in vitro nicht erreicht werden konnte. Dies ist von erheblicher Bedeutung, da in vitro differenzierte menschliche Zellen grundsätzlich eher ein unreifes, frühes Entwicklungsstadium aufweisen und die In-vitro-Reifung der kultivierten Zellen eine große Herausforderung darstellt (Lancaster et al., 2017).

Die Versorgung der Zellen mit Sauerstoff und Nährstoffen im dreidimensionalen Zellverband ist eine Voraussetzung, um größere und langlebigere Organoide herzustellen und zu studieren (Mansour et al., 2018). Die Transplantation von Organoiden in Mäuse führt allerdings auch zu ethischen Fragestellungen, inwieweit humanes Nervengewebe in tierische Hirnstrukturen eingebunden wird und zerebrale Prozesse verändert (Farahany et al., 2018). In einer weiteren Studie wurde gezeigt, dass Langzeitkulturen von Gehirn-Organoiden zur Etablierung komplexer neuronaler Netzwerke führte, die zahlreiche Zelltypen enthielten, beispielsweise auch Zellen der Netzhaut, die auf Lichtstimulation reagieren (Quadrato et al., 2017). In zerebralen Organoiden ließen sich auch unterschiedliche Zellpopulationen, beispielsweise aus verschiedenen Hirnarealen, zusammenfügen und Wanderungsprozesse der Nervenzellen sowie die Ausbildung von spezifischen Hirnstrukturen studieren (Bagley et al., 2017; Birey et al., 2017). Ein Team um Mike Karl in Dresden beobachtete, dass retinale Organoide bei einer gezielten Regulation von Signalübertragungsprozessen in der Lage sind, Photorezeptoren zu bilden. Die Arbeit beschreibt die Existenz von sowohl Stäbchenzellen als auch Zapfenzellen, den beiden Sehzelltypen im Auge (Völkner et al., 2016).

2.5.4 Krankheitsmodelle unter Verwendung von iPS-Zellen

Humane embryonale und induzierte pluripotente Stammzellen und daraus abgeleitete differenzierte Zelltypen sowie dreidimensionale Organoide stellen exzellente und wichtige Modellsysteme für das Verständnis von Erkrankungen des Menschen dar. Die bisherigen Stammzellberichte haben diese Modelle vorgestellt. Im Berichtszeitraum ist in diesem Feld u. a. gezeigt worden, dass sich kolorektale Darm-Organoide entwickeln lassen, die

beispielsweise für die Erforschung der Entstehung des kolorektalen Karzinoms und in der Präzisionsmedizin, also für die angepasste Behandlung des einzelnen Patienten genutzt werden könnten. Hierzu wurde eine Sammlung von Tumor-Organoiden aufgebaut (Fujii et al., 2016). Weiterhin werden Darm-Organoide von Mukoviszidose-Patienten verwendet, um die Effektivität von Medikamenten zu testen und im Vorfeld der Behandlung bereits in vitro zu prüfen, ob ein Patient voraussichtlich auf ein Medikament ansprechen wird (Dekkers et al., 2013). Dieses System ist im siebten Stammzellbericht bereits vorgestellt worden, ist allerdings in dieser Berichtsperiode nochmals verfeinert worden, um weitere Patienten mit Mukoviszidose und andere Medikamente einzuschließen sowie eine präzisere Bewertung der Reaktionen auf die Medikamente zuzulassen (Dekkers et al., 2016). Eine neue Studie etablierte die erste hPS-Zell-basierte Plattform für die Untersuchung der Entwicklung des menschlichen enterischen Nervensystems, auf der molekulare Ursachen für Entwicklungsstörungen beispielsweise die Hirschsprung-Krankheit aufgedeckt und künftig zell- und medikamentenbasierte Strategien zu deren Behandlung entwickelt werden könnten (Fattahi et al., 2016). Hohwieler et al. 2017 entwickelten eine Methode, um aus hPS-Zellen Pankreas-Organoide herzustellen. Solche Organoide können als Modellsystem für die Pankreas-Entwicklung und für Erkrankungen dienen, und möglicherweise lassen sich mit dieser Technologie auch therapeutische Verfahren entwickeln, beispielsweise für die Behandlung von Diabetes (Hohwieler et al., 2017).

Eine wichtige wissenschaftliche Entwicklung im Berichtszeitraum war die Verwendung von Organoiden aus hPS-Zellen für die Untersuchung von Infektionskrankheiten. Bei Ausbruch der Infektionen mit dem Zika-Virus 2015 in Lateinamerika stand kein geeignetes Modellsystem zur Verfügung, um den Verlauf der Infektion zu untersuchen und mögliche Medikamente zu testen. Der Befund, dass sich humane zerebrale Organoide mit dem Zika-Virus infizieren lassen, führte in kurzer Zeit zur Etablierung eines effektiven Testsystems, das außer der Untersuchung des Infektionszyklus des Virus, auch die Unterscheidung von verschiedenen Formen des Zika-Virus erlaubt und eine Plattform für die Medikamentenentwicklung bietet (Cugola et al., 2016; Gabriel et al., 2017; Watanabe et al., 2017). Weitere Testsysteme für Infektionserkrankungen lassen sich aus Darm-Organoiden entwickeln, die entweder direkt aus Darmstammzellen oder auch aus hPS-Zellen hergestellt werden können. Eine Studie stellte ein Kultursystem vor, das die Untersuchung von bisher nicht kultivierbaren humanen Noroviren (HuNoV) ermöglicht und die Entwicklung von Methoden zur Vorbeugung und Behandlung von HuNoV-Infektionen erlaubt (Ettayebi et al., 2016). Eine ähnliche Studie ist zur bakteriellen Infektion mit dem Magenkeim Helicobacter pylori veröffentlicht worden. Hier können Magen-Organoide verwendet werden, um den Infektionsverlauf zu untersuchen (Bartfeld und Clevers, 2015). Es ist zu erwarten, dass sich weitere Anwendungen von Organoiden verschiedener Gewebe für die Analyse von Infektionskrankheiten mit Viren, Bakterien und Parasiten entwickeln lassen. Dies hat den Vorteil, dass Infektionsmechanismen nicht wie bislang am Tiermodell untersucht werden müssen, sondern direkt an menschlichen Zellen getestet werden können, und die Ergebnisse folglich eine höhere Aussagekraft für die Situation im Menschen haben.

2.5.5 Pharmakologische / Toxikologische Substanztestung und Wirkstoffscreening

Stammzellbasierte Zellmodelle für menschliche Krankheiten geben nicht nur Aufschluss über die molekularen Ursachen einer Krankheit. Sie stellen auch ein System dar, das sich sehr gut zur Testung von Wirkstoffen und Medikamenten eignet. Entsprechende Ansätze sind in den vorhergehenden Stammzellberichten detailliert beschrieben worden. Insbesondere die Toxizität einiger Medikamente auf Herzmuskelzellen kann fatale Folgen haben. Es ist beispielsweise bekannt, dass das Zytostatikum Doxorubicin, das u. a. zur Behandlung von Brustkrebs eingesetzt wird, kardiotoxische Effekte haben kann. Unter Nutzung von Kardiomyozyten, die aus hiPS-Zellen von Patienten abgeleitet wurden, ließen sich die Kardiotoxizität von Doxorubicin in Zellkultur gut rekapitulieren und mögliche Ursachen für individuelle Unterschiede in der Kardiotoxizität bestimmen. Auf dieser Basis könnte die Kardiotoxizität von Doxorubicin künftig im Vorfeld der Medikation für jeden Patienten individuell bestimmt werden (Burridge et al., 2016). Auch bei anderen Medikamenten für die Krebstherapie, beispielsweise bei einigen Tyrosinkinase-Inhibitoren, tritt Kardiotoxizität auf. Hier ist in einem Hochdurchsatz-Screening der Insulin-/IGF-Signalweg identifiziert worden, der durch die Inhibitoren gehemmt wird. Diese Hemmung bedingt die Kardiotoxizität und die Aktivierung von kardioprotektiven Insulin-/IGF-Signalwegen vermindert diese Nebenwirkung (Sharma et al., 2017). Die familiäre pulmonal-arterielle Hypertonie (PAH) ist auf eine Mutation in einem Gen zurückzuführen, das für einen Zelloberflächen-Rezeptor codiert. Allerdings sind nicht alle Mitglieder einer Familie, die Träger der Mutation sind, von der Erkrankung betroffen. Es scheint also schützende Modifikationen bei einigen Personen zu geben. Mittels Endothelzellen (Blutgefäßzellen), die aus hiPS-Zellen dieser Mutationsträger differenziert wurden, lassen sich zukünftig eventuell Medikamente entwickeln, die vor der pulmonalen Hypertonie bei betroffenen Patienten schützen können (Gu et al., 2017). Dies sind einige Beispiele, wie hiPS-Zellen in der Medikamentenentwicklung eingesetzt werden können.

2.5.6 Biobanking von humanen pluripotenten Stammzellen

Das Biobanking – also das Archivieren von humanen pluripotenten Stammzellen – nimmt einen immer wichtigeren Raum ein, um der Forschung standardisierte Modelle für die Untersuchung von Erkrankungen und für Hochdurchsatzverfahren zum Testen von Medikamenten bereitzustellen. Die Bereitstellung von Stammzellen und differenzierten Zelltypen für zukünftige Zellersatztherapien könnte ebenfalls von der Einlagerung und Registrierung von hPS-Zellen profitieren. Die Internationale Stammzell-Banking-Initiative (ISCBI) versucht, die verschiedenen weltweit existierenden Banking-Projekte zu koordinieren, um diese Ressourcen besser zugänglich zu machen. Die vorrangigen Überlegungen für die ISCBI umfassen die Gewährleistung der Sicherheit und Wirksamkeit eines endgültigen Zelltherapieprodukts und qualitätsgesicherter Ausgangsmaterialien, wie beispielsweise Stammzellen und primäre Spenderzellen. Zu diesem Zweck verfolgt das ISCBI das Ziel, die weltweite Harmonisierung der Qualitäts- und Sicherheitskontrollen von Stammzellen für die Forschung und die Entwicklung von Ausgangsstoffen für Zelltherapien durch einen regelmäßigen Austausch zwischen hPS-Zellbanken, Biologen und Aufsichtsbehörden zu fördern (Kim et al., 2017). Eine wichtige in Europa aufgebaute Stammzell-Biobank ist die „European Bank for Induced Pluripotent Stem Cells“ (EBiSC), die im Rahmen der europäischen Initiative für innovative Medizin (IMI) gefördert wird. Die Bank stellt allerdings nur Zellen für den In-vitro-Gebrauch zur Verfügung und bietet keine GMP-konformen Linien an, die für regenerative Therapien erforderlich sind (De Sousa et al., 2017). Wesentliche Aspekte, die bei der Lagerung von hiPS-Zellen in Zellbanken beachtet werden sollten, wurden in einer Publikation beschrieben, in der insbesondere Ursachen für die hohe Variabilität zwischen verschiedenen hiPS-Zelllinien untersucht wurden und die Vorschläge zur standardmäßigen Analyse von einzulagernden Zellen macht. Die Autoren schlagen vor, aufgrund der hohen genetischen Variabilität in der menschlichen Population eine große Anzahl an verschiedenen hiPS-Zellen vorrätig zu halten (Kyttälä et al., 2016).

2.5.7 Bioengineering und -materialien und Bioprinting

Neue wissenschaftliche Entwicklungen haben sich auch auf dem Gebiet des Bioengineering und Tissue Engineering sowie bei der Verwendung von Biomaterialien in Verbindung mit der Kultivierung von hPS-Zellen ergeben. Die Wechselwirkung der Zellen mit ihrer Umgebung kann durch gezielten Einsatz geeigneter Biomaterialien optimiert werden, was zu verbessertem Wachstum und verstärkter Differenzierung beitragen kann. Hydrogele mit Spannungs- und Relaxationseigenschaften, die durch chemische Prozesse regulierbar sind, können die Proliferation und Aktivität von Stammzellen sowie deren Differenzierung entscheidend beeinflussen. Auch in vivo hängen die diversen biologischen Prozesse entscheidend von der Zellumgebung und den natürlichen Bestandteilen des extrazellulären Milieus ab.

Biomaterialien und deren gezielte Veränderung können daher einen großen Einfluss auf die Kultivierung von Stammzellen haben (Chaudhuri et al., 2016). So wurde beispielsweise gezeigt, dass ein 3D-Modell für die äußere Körperhülle (Integument) der Maus, das auf iPS-Zellen und einer Matrix aus Biomaterialien basierte, sich nach Transplantation in die Maus zu normaler Haut mit Anhangsorganen wie Haarfollikeln und Talgdrüsen entwickelte (Takagi et al., 2016). Auch für Organoidsysteme wie Darm-Organoide wurde beschrieben, wie die Einbettung der Zellen in spezielle Matrizes eine Langzeitkultur der Organoide und ein optimales Wachstum ermöglicht. Dieser Ansatz überwindet verschiedene Einschränkungen aktueller Organoidkulturen und erweitert deren Anwendbarkeit in der Grundlagenforschung und klinischen Forschung. Aufbauend auf diesen Prinzipien können Designermatrizes identifiziert werden, die für die Langzeitkultur anderer Arten von Stammzellen und Organoiden optimal sind (Gjorevski et al., 2016).

Das 3D-Bioprinting wurde bereits für die Erzeugung und Transplantation verschiedener Gewebe verwendet, einschließlich mehrschichtiger Haut, Knochen, Gefäßtransplantate, Trachealschienen, Herzgewebe und knorpeligen Strukturen. Andere Anwendungen umfassen die Entwicklung von Hochdurchsatz-3D-Bioprotein-Gewebemodellen für Forschung, Wirkstoffforschung und Toxikologie (Huang et al., 2017). Die Kombination von Stammzelltechnologien mit den Bioingenieurswissenschaften wird zukünftig wichtige Erkenntnisse und neue therapeutische Anwendungen ermöglichen.

2.5.8 Entwicklung von Therapien mit humanen pluripotenten Stammzellen sowie anderen Stammzelltypen

Schon mit der Etablierung von hES-Zellen (Thomson et al., 1998) und dann mit der Herstellung von hiPS-Zellen (Takahashi et al., 2007) verband sich früh die Hoffnung auf neue, stammzellbasierte Therapien für schwerwiegende Krankheiten. In einer Vielzahl präklinischer Studien in Tiermodellen stellte sich heraus, dass der Zellersatz im Organismus, speziell die Integration transplantierter Zellen in einen bestehenden Zellverband

in einem Gewebe, wesentlich schwieriger ist als angenommen. Auch die Fragestellungen, die sich aus regulatorischer Perspektive beispielsweise bezüglich der Sicherheit derartiger Arzneimittel für neuartige Therapien (ATMP, Advanced Therapy Medicinal Products) ergaben, sind vielfältig. Die Zulassungen für diese Therapien bzw. Produkte auch für den Einsatz in klinischen Studien sind mit hohen Hürden und erheblichen Auflagen für die Entwicklung der entsprechenden Zellprodukte verbunden. Es dauerte daher bis 2010, bis dem Unternehmen Geron in den USA die Durchführung der ersten Studie mit aus hES-Zellen abgeleiteten Oligodendrozyten-Vorläuferzellen zur Behandlung von Rückenmarksverletzungen genehmigt wurde (zusammengefasst in Löser et al., 2018). Dennoch ist eine breite Verfügbarkeit von Therapien auf der Basis von aus hPS-Zellen abgeleiteten Zellen neben den biologischen Schwierigkeiten zur Herstellung von geeigneten Zellen auch aufgrund des langen und anspruchsvollen regulatorischen Weges, der u. a. zur Gewährleistung ihrer Sicherheit erforderlich ist, einige Jahre entfernt (Trounson und DeWitt, 2016). Im Folgenden sollen die beachtlichen Fortschritte in den verschiedenen Feldern, die in der Berichtsperiode in klinischen Studien auf der Basis pluripotenter Stammzellen erreicht worden sind, dargestellt werden. Tabelle 1 (Kapitel 2.5.8.7) gibt einen tabellarischen Überblick über die weltweiten klinischen Studien mit hPS-Zellen.

2.5.8.1 Zellersatz bei ischämischen Herzerkrankungen

Ein wichtiges medizinisches Anwendungsfeld für pluripotente Stammzellen ist ischämische Herzerkrankungen, bei denen Gewebe durch eine Unterversorgung zugrunde geht, beispielsweise nach einem Herzinfarkt. Speziell in präklinischen Modellen konnten hier in der letzten Zeit große Fortschritte erzielt werden (zusammengefasst in Yoshida und Yamanaka, 2017). Eine wichtige Entwicklung ist die Integration von Kardiomyozyten, die aus hPS-Zellen abgeleitet wurden, in geschädigte Gewebe in Tiermodellen für Herzinfarkt. In Versuchen mit Meerschweinchen zeigte sich, dass dreidimensionale Konstrukte aus Kardiomyozyten das verletzte Herz reparieren können (Weinberger et al., 2016). Nach Transplantation in Herzen von Ratten reiften humane Kardiomyozyten zwar langsamer als neonatale Rattenkardiomyozyten, jedoch wiesen sie drei Monate nach Transplantation wesentliche Merkmale reifer Herzmuskelzellen auf (Kadota et al., 2017). Die Ausreifung von transplantierten hPS-Zell-basierten Zellen sowie ihre physiologische Funktion und Integration in das Gewebe ist eine der großen Herausforderungen der Zelltherapien bei Organschäden. In einem Primatenmodell konnte nun auch die Integration von Kardiomyozyten in das Wirtsgewebe nach Transplantation in das von einem Infarktereignis betroffene (infarzierte) Herz von Makaken beobachtet werden (Shiba et al., 2016). Allen diesen präklinischen Modellen ist gemein, dass die transplantierten Zellen oder Zellverbände Arrhythmien im Empfängerherz verursachen, was eine ggf. schwerwiegende unerwünschte Nebenwirkung darstellt. Aus Japan wurde von einer geplanten klinischen Studie berichtet, in der hiPS-Zellen für die Herzregeneration verwendet werden sollen (Cyranoski, 2018b). Die Studie ist allerdings noch nicht in den Registern zu klinischen Studien zu finden. Allerdings hat die Gruppe 2017 gezeigt, dass Zelllagen aus autologer Skelettmuskulatur nach Transplantation einen positiven Effekt bei der Behandlung von Kardiomyopathien hat. Es liegt allerdings keine Integration der Muskelzellen in das Wirtsgewebe vor, sondern – auf Grundlage der Ergebnisse präklinischer Studien – werden vor allem parakrine Effekte erwartet (Miyagawa et al., 2017). Auch in Deutschland werden derzeit erste klinische Studien mit Zellmaterial geplant, das von hES- und iPS-Zellen abgeleitet worden ist. Hier laufen aktuell die Vorbereitungen für eine erste Studie zur Anwendung von aus iPS-Zellen differenzierten Herzmuskelzellen, die als Zellpflaster (Engineered Heart Muscle) transplantiert werden sollen (Tiburcy et al., 2017).

Bei der kardialen Stammzelltherapie sind auch andere Stammzellpopulationen in den Fokus gerückt: Mesenchymale Stammzellen (MSC) wirken vorwiegend über parakrine Effekte. Die transplantierten Zellen sezernieren proregenerative Faktoren, welche die körpereigene Regeneration positiv beeinflussen (zusammengefasst in Eschenhagen et al., 2017). Eine Studie in Frankreich, die bisher einzige mit hES-Zellen zur Behandlung von Herzinsuffizienz (siehe Kapitel 2.5.8.7, Tabelle 1), geht ebenfalls von Regenerationseffekten der transplantierten Zellen aus (Menasché et al., 2015; 2018).

2.5.8.2 Pankreatische Beta-Zellen aus Stammzellen für Diabetes mellitus Typ1

Diabetes mellitus vom Typ 1 ist eine Autoimmunerkrankung, bei der die Insulin-produzierenden Beta-Zellen bzw. Inselzellen der Bauchspeicheldrüse zerstört werden. Typ-1-Diabetiker sind daher auf die Gabe von Insulin angewiesen, um ihren Zuckerhaushalt zu steuern. Der Ersatz von Beta-Zellen auf Basis von hPS-Zellen ist daher ein wichtiges Therapiekonzept, das intensiv erforscht wird (zusammengefasst in Odorico et al., 2018; Zhou und Melton, 2018). Momentan werden vier klinische Studien durchgeführt, die alle von der kalifornischen Biotechnologiefirma Viacyte initiiert wurden. Die Studien finden in den USA und in Kanada statt. Die Methode basiert auf Beta-Zellen, die aus hES-Zellen differenziert und in Kapseln eingebracht werden. Die Kapseln schützen die Zellen vor einer Zerstörung durch das Immunsystem, sie erlauben es den Zellen aber, auf den Zuckerspiegel im

Körper des Patienten zu reagieren und Insulin abzugeben. Die Methode wurde in einem präklinischen Maus-Modell erfolgreich getestet (van der Torren et al., 2017). In weiteren Studien zur Entwicklung von Beta-Zellen konnten neue Biomarker identifiziert werden, die Aufschluss über die molekularen Grundlagen der Heterogenität und Plastizität der Inselzellen und die Herstellung von endokrinen Populationen für die Regeneration der funktionellen Beta-Zellmasse bei Diabetikern ermöglicht (Bader et al., 2016; Dorrell et al., 2016).

2.5.8.3 Zellersatz bei Rückenmarkverletzungen und neurodegenerativen Erkrankungen

Ein dynamisches Forschungsgebiet in der klinischen Entwicklung von stammzellbasierten Therapien sind weiterhin neurologische und neurodegenerative Erkrankungen. Immer bessere Methoden zur Erzeugung robusterer und definierter neuronaler Zelltypen, etwa mittels Reprogrammierung oder direkter Umwandlung, haben zur Etablierung verschiedener neuronaler Krankheitsmodelle geführt sowie zu Zellpopulationen, die zukünftig für regenerative Behandlungen eingesetzt werden können (Mertens et al., 2016).

Die erste klinische Studie mit hES-Zellen, die 2010 von der Firma Geron angemeldet wurde, hatte die Behandlung von unfallbedingten Rückenmarksverletzungen mit Oligodendrozyten-Vorläuferzellen (Zellproduktname: GRNOPC1), die aus hES-Zellen differenziert wurden, zum Ziel. Oligodendrozyten sind Zellen, die Neuronen stützen und versorgen. Zudem können sie eine Myelinschicht um Nervenzellen bilden. Die klinische Phase-I-Studie nahm im Oktober 2010 ihren ersten Patienten auf. 2011 wurde die Studie aus wirtschaftlichen Erwägungen abgebrochen und Ende 2013 von Asterias Biotherapeutics (Produktname: AST-OPC1) fortgesetzt. In ersten klinischen Versuchen mit wenigen Patienten konnte die Sicherheit der Behandlung gezeigt werden. Da aber zunächst nur geringe Zellmengen eingesetzt wurden, konnten keine positiven Effekte auf die Verletzung beobachtet werden. Allerdings zeigen mehrere präklinische Studien positive Effekte derartiger Therapien (Kadoya et al., 2016; Manley et al., 2017). Neue Daten aus den weiteren klinischen Versuchen mit höheren Zellzahlen zeigen laut einer Information auf der Asterias-Internetseite erste positive therapeutische Effekte (Asterias Biotherapeutics, Inc., 2017). Allerdings sind diese Befunde bislang nicht in einer Fachzeitschrift publiziert oder unabhängig bestätigt worden.

Eine Reihe von Aktivitäten zum Zellersatz bei neurodegenerativen Erkrankungen sind bei der Behandlung des Morbus Parkinson zu verzeichnen (zusammengefasst in Barker et al., 2016). Hier wird versucht, dopaminerge Neuronen, die im Gehirn von Erkrankten absterben, durch von hPS-Zellen abgeleitete Neurone zu ersetzen. Im Affenmodell und weiteren Tiermodellen ist der Zellersatz bereits gelungen (Kikuchi et al., 2017), und effiziente Protokolle für die Erzeugung von differenzierten Zellen unter GMP-Bedingungen wurden beschrieben (Kirkeby et al., 2017). Die Stammzellforschergemeinde wartet nun auf die ersten klinischen Studien, die für die USA (Bluerock Therapeutics) und Europa (aus hES-Zellen) sowie Japan (aus hiPS-Zellen) angekündigt worden sind. Eine klinische Studie zu Parkinson ist bereits aus China angemeldet, wobei hier wenig von den Vorversuchen bekannt bzw. publiziert ist und es hierzu kritische Stimmen gibt (Knoepfler, 2017). Die International Stem Cell Corporation (ISCO), ein führendes Unternehmen bei der Verwendung pluripotenter Stammzellen, hat bekanntgegeben, dass in Australien eine klinische Studie mit parthenogenetischen Stammzellen, die in dopaminerge Neuronen (Zellprodukt: ISC-hpNSC) differenziert worden sind, genehmigt wurde und bei der ISCO-Tochtergesellschaft Cyto Therapeutics durchgeführt wird (International Stem Cell Corporation ISCO, 2015). In einer Sicherheitsstudie fanden die Autoren keine undifferenzierten hPS-Zellen in ihrem Zellprodukt und konstatierten ein vernachlässigbares Tumorrisiko durch das Zellprodukt (Garitaonandia et al., 2016). Ebenfalls Fortschritte gibt es bei der Behandlung von Motoneuron-Krankheiten wie der Amyotrophen Lateralsklerose (ALS): In präklinischen Studien gab es vielversprechende Ergebnisse (Garbuzova-Davis et al., 2017) und klinische Studien sind in Zukunft zu erwarten.

2.5.8.4 Degenerative Erkrankungen der Netzhaut

Das Auge als geschlossenes System mit immunologisch günstigen Eigenschaften eignet sich besonders gut für Zellersatztherapien. Auch aus diesem Grunde zielen die mit Abstand meisten auf pluripotenten Stammzellen basierenden klinischen Studien auf die Behandlung von Augenerkrankungen, insbesondere von verschiedenen Formen der Makuladegeneration. Bei der Makuladegeneration kommt es zu einem Verlust der Sehschärfe und schließlich zur Erblindung infolge degenerativer Prozesse in den Zellen eines bestimmten Areals der Netzhaut. Die sehr häufig auftretende altersbedingte Makuladegeneration (AMD) stellt die häufigste Ursache für Altersblindheit dar. Folglich sind u. a. die trockene und feuchte AMD aber auch die genetisch bedingte, bereits im Jugendalter manifeste Stargardt-Makuladystrophie Gegenstand entsprechender Studien (Dyer, 2016). In einer japanischen Studie wurden bisher zwei Patienten mit aus hiPS abgeleiteten Zellen behandelt (Mandai et al., 2017; Sugita et al., 2016). Ursprünglich sollten beide Patienten mit auf autologen iPS-Zellen basierenden Zellprodukten behandelt werden, also auf der Grundlage körpereigener reprogrammierter Zellen. In den iPS-Zellen

eines Patienten wurden allerdings genetische Veränderungen (Deletionen) u. a. im X-Chromosom festgestellt. Um das Risiko einer Tumorentstehung oder anderer genetischer Erkrankungen aufgrund der Deletionen auszuschließen, wurden bei diesem Patienten allogene hiPS-Zellen transplantiert. Er ist damit der erste Patient, dem hiPS-Zellen einer anderen Person transplantiert wurden (Cyranoski, 2017). Die Studienautoren aus Japan berichteten von positiven Effekten bei der Wiederherstellung der Sehfähigkeit (Mandai et al., 2017).

In den USA werden klinische Studien mit retinalen Pigmentepithelzellen (RPE-Zellen), die von hES-Zellen abgeleitet wurden, durchgeführt (Schwartz et al., 2015; 2016). Inzwischen sind aus Großbritannien vom „London Project to Cure Blindness" ermutigende Daten einer Phase-I-Studie zum Zellersatz bei AMD in zwei Patienten berichtet worden, denen eine einlagige Schicht hES-basierter RPE-Zellen transplantiert wurde (da Cruz et al., 2018). Über ähnlich vielversprechende Ergebnisse haben Forscher berichtet, die vom California Institute of Regenerative Medicine (CIRM) gefördert wurden (Kashani et al., 2018). Auch wurden erste Resultate einer Studie zur Therapie von Makuladegeneration auf Basis pluripotenter Stammzellen veröffentlicht, die in Südkorea durchgeführt wird (Song et al., 2015; Shim et al., 2017). Die molekularen Prozesse, die bei der Entwicklung der verschiedenen Zelltypen im Auge relevant sind, wurden in der Berichtsperiode durch die Untersuchung retinaler Organoide weiter aufgeklärt (Völkner et al., 2016). In präklinischen Modellen ist der Ersatz von Fotorezeptorzellen ebenfalls gelungen (Gonzalez-Cordero et al., 2017; Welby et al., 2017).

2.5.8.5 Weitere klinische Studien mit stammzellbasierten Zelltypen

Für eine Vielzahl von weiteren menschlichen Geweben hat es bemerkenswerte Fortschritte in der Entwicklung stammzellbasierter Therapien gegeben. Das Unternehmen Asterias Biotherapeutics führt derzeit eine klinische Studie zum Einsatz von dendritischen Zellen zur Behandlung von Tumorerkrankungen durch. Die dendritischen Zellen wurden aus hES-Zellen hergestellt (Produktname: AST-VAC2) und können dem Immunsystem sehr effektiv Tumorantigene präsentieren, sodass eine Immunantwort gegen den Krebs hervorgerufen wird. In einer klinischen Phase-I/IIa-Studie mit etwa 30 Patienten soll sowohl eine optimale Dosis bestimmt als auch eine Erweiterung der Einschlusskriterien in die Studie vorgenommen werden, um eine Bewertung der Sicherheit, Toxizität und Immunogenität bei Patienten mit einer fortgeschrittenen Tumorerkrankung vornehmen zu können (Case et al., 2015).

Eine stammzellbasierte Gentherapie zur Behandlung von großflächigen Hautschädigungen sorgte im Jahr 2017 als Pionierleistung der regenerativen Medizin für Aufmerksamkeit. Einem Jungen, der in Bochum auf der Intensivstation lag, konnte mit Hauttransplantaten das Leben gerettet werden. Der Junge ist an der sog. Schmetterlingskrankheit (Epidermolysis bullosa) erkrankt. Aufgrund eines Gendefekts wird ein Bindungsprotein nicht richtig hergestellt, die Epidermis löst sich von der Dermis ab. 60 Prozent der Oberhaut des jungen Patienten waren bereits verlorengegangen. Ein internationales Konsortium, das aus Forschern und Ärzten aus Italien, Österreich und Deutschland besteht, berichtete über den gelungenen Heilungsversuch. Dazu wurde eine intakte Version des betroffenen Gens in epidermale Stammzellen eingeschleust. Aus den Stammzellen ließ sich dann neue Oberhaut gewinnen, die dem Patienten erfolgreich in vier Operationen transplantiert wurde (Hirsch et al., 2017). Nach Angaben der Autoren handelte es sich um die bisher größte Hauttransplantation aus transgenen epidermalen Stammzellen.

Für die Behandlung der Multiplen Sklerose (MS), einer Autoimmunerkrankung, bei der die Myelinscheiden von Neuronen im Gehirn angegriffen werden, ist eine Behandlung mit autologen (körpereigenen) hämatopoetischen Stammzellen beschrieben worden. Bei der Behandlung wird zunächst das Immunsystem des Patienten (Immunablation) zerstört; anschließend werden hämatopoetische Stammzellen transplantiert, um das Immunsystem wiederaufzubauen. Dabei scheinen die Zellen, die für die Autoimmunreaktion verantwortlich sind, abzusterben, und sie werden nicht wieder neu gebildet (Atkins et al., 2016).

Andere Studien berichten von Erfolgen bei der Behandlung von Schlaganfall mit mesenchymalen Stamm- bzw. Stromazellen (MSCs), die aus dem Knochenmark gewonnen werden können (Steinberg et al., 2016). Da sie modulierend auf das Immunsystem von Patienten wirken, zählen mesenchymale Stromazellen neben den hämatopoetischen Stammzellen zum derzeit am häufigsten klinisch eingesetzten Zelltyp (siehe Tabelle 3). Mittlerweile herrscht weitgehend Einigkeit darüber, dass mesenchymale Stromazellen vorwiegend durch die Freisetzung parakriner Faktoren wirken und das Regenerationspotenzial körpereigener (Stamm-) Zellen anregen. In den vergangenen Jahren sind daher insbesondere die extrazellulären Vesikel in den Fokus geraten: Die membranumgebenen Bläschen enthalten jene molekularen Komponenten und Faktoren, von denen die therapeutische Wirkung ausgeht. Extrazelluläre Vesikel haben daher ein vielversprechendes klinisches Anwendungspotenzial (Ragni et al., 2017; zusammengefasst in Doeppner et al., 2017), und mit ihnen wäre eine „zellfreie" regenerative Therapie denkbar.

2.5.8.6 Auflistung der klinischen Studien mit humanen pluripotenten Stammzellen

Die folgende Auflistung der klinischen Studien mit pluripotenten Stammzellen (Tabelle 1) stellt den Stand vom 15. Juni 2018 dar. Es wurde auf die Publikation Guhr et al. 2018 und auf die Register des US-amerikanischen National Institutes of Health (NIH) clinicaltrials.gov (Studienbezeichnung NCTXXX), das japanische Clinical Trials Register des University Hospital Medical Information Network (UMIN-CTR; UMINXXX) und das chinesische Clinical Trials Register (Chi-CTR Chi-CTR-XXX) zurückgriffen. Ausgewählte klinische Studien mit anderen Zelltypen sind als Auszug aufgelistet. Tabelle 2 gibt eine Zusammenfassung, welche humanen embryonalen Stammzelllinien in den 31 registrierten klinischen Studien verwendet werden, und Tabelle 3 vergleicht die absoluten Zahlen verschiedener Stammzelltypen in klinischen Studien.

Tabelle 1

Weltweit durchgeführte klinische Studien auf Basis humaner pluripotenter Stammzellen (vollständig) und unter Nutzung anderer Stammzellpopulationen (Auszug) (verändert und ergänzt nach Guhr et al. 2018)

Kennnummer	Studie	Erkrankung	Jahre	Sponsor	Status (Publikation)	Land
ES-Zellen						
Herzerkrankungen						
NCT02057900	Transplantation of Human Embryonic Stem Cell-derived Progenitors in Severe Heart Failure (ESCORT)	Koronare Herzerkrankung	2013-	Assistance Publique – Hôpitaux de Paris	Phase 1, aktiv, nicht rekrutierend (Menasché et al., 2018)	Frankreich
Stoffwechselerkrankungen (Diabetes)						
NCT02239354	A Safety, Tolerability, and Efficacy Study of VC-01™ Combination Product in Subjects with Type I Diabetes Mellitus	Diabetes Mellitus Typ 1	2014-	ViaCyte	Phase 1/2, aktiv, nicht rekrutierend	USA / Kanada
NCT03162926	A Safety and Tolerability Study of VC-02™ Combination Product in Subjects with Type 1 Diabetes Mellitus	Diabetes Mellitus Typ 1	2017-	ViaCyte	Phase 1, aktiv, nicht rekrutierend	Kanada
NCT02939118	One-Year Follow-up Safety Study in Subjects Previously Implanted with VC-01™	Diabetes Mellitus Typ 1	2016-	ViaCyte	Phase 1/2, Teilnahme nur auf Einladung	USA / Kanada
NCT03163511	A Safety, Tolerability, and Efficacy Study of VC-02™ Combination Product in Subjects with Type 1 Diabetes Mellitus and Hypoglycemia Unawareness	Diabetes Mellitus Typ 1	2017-	ViaCyte	Phase 1/2, rekrutierend	USA / Kanada
Krebserkrankungen						
NCT03371485	AST-VAC2 Vaccine in Patients with Non-small Cell Lung Cancer	Nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom (NSCLC)	2018-	Cancer Research UK/Asterias Biotherapeutics, Inc.	Phase 1, noch nicht rekrutierend (Case et al., 2015)	UK
Neurologische Erkrankungen						
NCT03119636	Safety and Efficacy Study of Human ESC-derived Neural Precursor Cells in the Treatment of Parkinson's Disease	Parkinson-Krankheit	2017-	Chinese Academy of Sciences/The First Affiliated Hospital of Zhengzhou Univ.	Phase 1/2, rekrutierend	China
NCT03482050	A Study to Evaluate Transplantation of Astrocytes Derived from Human Embryonic Stem Cells, in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)	Amyothrophe Lateralsklerose	2018-	Kadimastem	Phase1/2, rekrutierend	Israel

Kennnummer	Studie	Erkrankung	Jahre	Sponsor	Status (Publikation)	Land
NCT02302157	Dose Escalation Study of AST-OPC1 in Spinal Cord Injury	Rückenmarks-verletzungen	2014-	Asterias Biotherapeutics, Inc.	Phase 1/2, aktiv, nicht rekrutierend (Manley et al., 2017)	USA
NCT01217008	Safety Study of GRNOPC1 in Spinal Cord Injury	Rückenmarks-verletzungen	2010-2014	Asterias Biotherapeutics, Inc.	Phase 1, beendet (Manley et al., 2017)	USA
Augenerkrankungen						
NCT0146983	Safety and Tolerability of Sub-retinal Transplantation of Human Embryonic Stem Cell Derived Retinal Pigmented Epithelial (hESC-RPE) Cells in Patients with Stargardt's Macular Dystrophy (SMD)	Makuladegeneration Morbus Stargardt	2011 - 2017	Astellas Institute for Regenerative Medicine	Phase 1/2, beendet (Schwartz et al., 2015)	UK
NCT01345006	Sub-retinal Transplantation of hESC Derived RPE(MA09-hRPE) Cells in Patients with Stargardt's Macular Dystrophy	Morbus Stargardt	2011 - 2017	Astellas Institute for Regenerative Medicine	Phase 1/2, beendet (Schwartz et al., 2015)	USA
NCT01344993	Safety and Tolerability of Sub-retinal Transplantation of hESC Derived RPE (MA09-hRPE) Cells in Patients with Advanced Dry Age-Related Macular Degeneration (Dry AMD)	Trockene (atrophe) altersbedingte Makuladegeneration (AMD)	2011 - 2017	Astellas Institute for Regenerative Medicine	Phase 1/2, beendet (Schwartz et al., 2015)	USA
NCT02941991	A Follow up Study to Determine the Safety and Tolerability of Sub-retinal Transplantation of Human Embryonic Stem Cell Derived Retinal Pigmented Epithelial (hESC-RPE) Cells in Patients with Stargardt's Macular Dystrophy (SMD)	Morbus Stargardt	2013	Astellas Institute for Regenerative Medicine	Phase 1/2, aktiv, nicht rekrutierend	UK
NCT02445612	Long Term Follow Up of Sub-retinal Transplantation of hESC Derived RPE Cells in Stargardt Macular Dystrophy Patients	Morbus Stargardt	2015-	Astellas Institute for Regenerative Medicine	Phase 1, aktiv, nicht rekrutierend Phase 1/2, beendet (Schwartz et al., 2015)	USA
NCT02463344	Long Term Follow Up of Sub-retinal Transplantation of hESC Derived RPE Cells in Patients With AMD	Fortgeschrittene trockene AMD	2015-	Astellas Institute for Regenerative Medicine	Phase 1, aktiv, nicht rekrutierend Phase 1/2, beendet (Schwartz et al., 2015)	USA
NCT03178149	A Phase 1b Dose Escalation Evaluation of Safety and Tolerability and a Phase 2 Proof of Concept Investigation of Efficacy and Safety of ASP7317 for Atrophy Secondary to Age-related Macular Degeneration	AMD bedingte Atrophie	2017-	Astellas Institute for Regenerative Medicine	Phase 1/2, noch nicht rekrutierend	keine Angaben
NCT03167203	A Safety Surveillance Study in Subjects with Macular Degenerative Disease Treated with Human Embryonic Stem Cell-derived Retinal Pigment Epithelial Cell Therapy	Verschiedene Makuladegenerations-erkrankungen	2017-	Astellas Institute for Regenerative Medicine	Phase 1/2, Teilnahme nur auf Einladung	USA

Kennnummer	Studie	Erkrankung	Jahre	Sponsor	Status (Publikation)	Land
NCT02286089	Safety and Efficacy Study of OpRegen for Treatment of Advanced Dry-Form Age-Related Macular Degeneration	Fortgeschrittene trockene AMD	2014-	Cell Cure Neuroscience Ltd.	Phase 1/2, rekrutierend	USA/Israel
NCT01674829	A Phase I/IIa, Open-Label, Single-Center, Prospective Study to Determine the Safety and Tolerability of Sub-retinal Transplantation of Human Embryonic Stem Cell Derived Retinal Pigmented Epithelial (MA09-hRPE) Cells in Patients with Advanced Dry Age-related Macular Degeneration (AMD)	Trockene AMD	2012-	CHABiotech CO., Ltd.	Phase 1/2, keine Angaben (Shim et al., 2017)	Südkorea
NCT01625559	Safety and Tolerability of MA09-hRPE Cells in Patients with Stargardt's Macular Dystrophy (SMD)	Morbus Stargardt	2012-	CHABiotech CO., Ltd.	Phase 1/2, keine Angaben (Shim et al., 2017)	Südkorea
NCT03046407	Treatment of Dry age-related Macular Degeneration Disease with Retinal Pigment Epithelium Derived from Human Embryonic Stem Cells	Trockene AMD	2017-	Chinese Academy of Sciences/The First Affiliated Hospital of Zhengzhou Univ.	Phase 1/2, rekrutierend	China
NCT02755428	Subretinal Transplantation of Retinal Pigment Epitheliums in Treatment of age-related Macular Degeneration Diseases	Trockene AMD	2016-	Chinese Academy of Sciences/Beijing Tongren Hospital	Phase 1/2, rekrutierend	China
ChiCTR-OCB-15007054	Clinical study of subretinal transplantation of clinical human embryonic stem cells derived retinal pigment epitheliums in treatment of dry age-related macular degeneration diseases	Trockene AMD	2015-	Chinese Academy of Sciences, Institute of Zoology	Keine Angaben (k.A.), prospektive Registrierung	China
ChiCTR-OCB-15007055	Clinical study of subretinal transplantation of clinical human embryo stem cell derived retinal pigment epitheliums in treatment of retinitis pigmentosa diseases	Retinitis pigmentosa	2015-	Chinese Academy of Sciences, Institute of Zoology	k.A., prospektive Registrierung	China
ChiCTR-OCB-15005968	The clinical trial of human embryonic stem cell derived epithelial cells transplantation in the treatment of severe ocular surface diseases	Erkrankungen der Hornhaut	2014-	Eye Institute of Xiamen University	k.A., prospektive Registrierung	China
NCT02903576	Stem Cell Therapy for Outer Retinal Degenerations	Trockene und feuchte AMD, Morbus Stargardt	2015-	Federal University of São Paulo	Phase 1/2, rekrutierend	Brasilien
NCT01691261	A Study of Implantation of Retinal Pigment Epithelium in Subjects with Acute Wet Age-Related Macular Degeneration	Feuchte (exsudative) AMD	2015-	Moorfields Eye Hospital NHS Foundation Trust (transferred from Pfizer, 06/2018)	Phase 1, ausgesetzt (da Cruz et al., 2018)	UK
NCT03102138	Retinal Pigment Epithelium Safety Study for Patients in B4711001	Feuchte (exsudative) AMD	2016-	Moorfields Eye Hospital NHS	Phase 1, rekrutierend	UK

Kennnummer	Studie	Erkrankung	Jahre	Sponsor	Status (Publikation)	Land
				Foundation Trust (transferred from Pfizer, 06/2018)	(da Cruz et al., 2018)	
NCT02590692	Study of Subretinal Implantation of Human Embryonic Stem Cell-Derived RPE Cells in Advanced Dry AMD	Trockene AMD	2015-	Regenerative Patch Technologies, LLC	Phase 1/2, aktiv, nicht rekrutierend (Kashani et al., 2018)	USA
NCT02749734	Clinical Study of Subretinal Transplantation of Human Embryo Stem Cell Derived Retinal Pigment Epitheliums in Treatment of Macular Degeneration Diseases	Feuchte AMD, Morbus Stargardt	2015-	Southwest Hospital, China	Phase 1/2, aktiv, nicht rekrutierend	China
iPS-Zellen						
Krebserkrankungen						
NCT03407040	Generation of Cancer Antigen-Specific T-cells From Human Induced Pluripotent Stem Cells (iPSC) for Research and Potential Future Therapy	Verschiedene Krebsarten	2018-	National Cancer Institute (NCI)	Phase 1/2, Teilnahme nur auf Einladung	USA
Transplantat gegen Wirt Reaktion (Graft versus host disease)						
NCT02923375	A Study of CYP-001 for the Treatment of Steroid-Resistant Acute Graft Versus Host Disease CYP-001 Zellen sind MSC Vorläuferzellen aus iPS-Zellen	Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion	2016-	Cynata Therapeutics Limited	Phase 1, aktiv, nicht rekrutierend	Australien
Augenerkrankungen						
UMIN000026003	A Study of transplantation of allogenic induced pluripotent stem cell (iPSC) derived retinal pigment epithelium (RPE) cell suspension in subjects with neovascular age related macular degeneration RPE Zellen aus allogenen iPS Zellen	Feuchte (exsudative) AMD	2017-	Kobe City Medical Center General Hospital	Phase 1, aktiv, nicht rekrutierend	Japan
UMIN000011929	A study of transplantation of autologous induced pluripotent stem cell (iPSC) derived retinal pigment epithelium (RPE) cell sheet in subjects with exudative age-related macular degeneration	Feuchte (exsudative) AMD	2013-	RIKEN, Laboratory for Retinal Regeneration	Phase 1, aktiv, nicht rekrutierend (Mandai et al., 2017)	Japan
iPS-Zellbank						
NCT03434808	Generation of an Induced Pluripotent Stem (iPS) Cell Bank Immune Matched to a Majority of the US Population	iPS Zellbank für die Behandlung von Krankheiten	2017-	Center for International Blood and Marrow Transplant Research	Phase 1/2, Teilnahme nur auf Einladung	USA

Kennnummer	Studie	Erkrankung	Jahre	Sponsor	Status (Publikation)	Land
Weitere Zelltypen (Auszug)						
Parthenogenetisch hergestellte Zellen						
NCT02452723	A Study to Evaluate the Safety of Neural Stem Cells in Patients with Parkinson's Disease, ISC-hpNSCs	Parkinson-Krankheit	2015-	Cyto Therapeutics Pty Limited	Phase 1	Australien
Fötale Zellen (Beispiel)						
NCT01898390	TRANSEURO Open Label Transplant Study in Parkinson's Disease (TRANSEURO)	Parkinson-Krankheit	2012-	University of Cambridge	Phase 1, aktiv, nicht rekrutierend	UK, Europe
Autologe Muskelzellen (Beispiel)						
UMIN000003 273	Development of new strategy for severe heart failure using autologous myoblast sheets	Ischämische und dilatative Kardiomyopathie	2010-	Osaka University Graduate School of Medicine	Phase 1/2, Teilnahme nur auf Einladung, (Miyagawa et al., 2017)	Japan
Mesenchymale Stammzellen (MSC, Beispiel)						
NCT01287936	A Study of Modified Stem Cells in Stable Ischemic Stroke	Schlaganfall	2011-2015	SanBio, Inc.	Phase 1/2, beendet (Steinberg et al., 2016)	USA
Herstellung von iPS-Zellen von Patienten/Probanden (Beispiel aus über 80 Studien)						
NCT00874783	Development of iPS from Donated Somatic Cells of Patients with Neurological Diseases	Herstellung von iPS-Zellen	2009-	Hadassah Medical Organization		Israel

Tabelle 2

Auflistung der humanen embryonalen Stammzelllinien, die für klinische Studien verwendet werden (ergänzt nach Guhr et al. (2018))

hES-Zelllinien, die in klinischen Studien verwendet werden:		
hES-Zelllinie	**Zahl der klinischen Studien**	**Erste Publikation**
Cyt49	4	2006
H1	3	1998
H9	2	1998
HDAC102	1	2012
I6	1	2002
MA09	11	2006
Shef1	1	2004
keine Angabe	8	

Tabelle 3

Anzahl der Stammzell- bzw. Zelltypen, die für klinische Studien verwendet werden

Insgesamt existieren in clinicaltrials.gov Einträge über ca. 6000 klinische Studien auf der Basis von Stammzellen folgender Typen:	
Blutstammzellen	> 2000
Mesenchymale Stromazellen (MSC)	> 800
humane ES-Zellen	31
humane iPS-Zellen für Zellersatztherapien	7
humane iPS-Zellen von Patienten zur Modellierung von Erkrankungen	>80
parthenogenetisch hergestellte pluripotente Zellen	1

3 Schlussfolgerungen

In den Jahren 2016 und 2017 hat die Erforschung von humanen pluripotenten Stammzellen (hPS-Zellen) erneut wichtige Erkenntnisse in der Grundlagenforschung geliefert. Anwendungsorientierte Forschung und klinische Studien mit zellbasierten Arzneimitteln offenbaren zunehmend das Potenzial dieser Zellen und ihrer Derivate in der regenerativen Medizin. Stammzellen eignen sich als Ausgangspunkt für Modellsysteme für Krankheiten, für zellbasierte Plattformen für Wirkstoff-Tests sowie für medizinische Präparate für neue Therapiekonzepte. In all diesen Bereichen hat es im Berichtszeitraum signifikante Fortschritte gegeben.

Die wissenschaftliche Community in Deutschland leistet im Bereich der Grundlagenforschung und der Verwendung der Zellen in der Gesundheitsforschung und Gesundheitswirtschaft international signifikante Beiträge. Die deutsche Forschung hat sich sehr gut vernetzt und die Zusammenarbeit mit anderen Forschungsdisziplinen wie der Zell- und Molekularbiologie, der Biotechnologie, der Biomaterialforschung, der zellulären Pathologie und Pathophysiologie, der Pharmakologie, dem Tissue Engineering, der Immunologie, der Chirurgie, der Bildgebung und der klinischen Medizin konnte intensiviert werden.

Durch die zunehmende Etablierung der Verfahren der Genom-Editierung – inzwischen wird hauptsächlich die Designernuklease CRISPR/Cas9 eingesetzt – haben sich auch die Möglichkeiten der Stammzellforschung enorm erweitert. Die gezielte Einführung von Mutationen und das Entfernen von Genen ermöglichen genauere Aussagen über das Zusammenspiel der Gene in verschiedenen Zelldifferenzierungswegen. Die Stammzellforschung profitiert dabei insbesondere von der Kombination der neuen wegweisenden technologischen Entwicklungen in den Biowissenschaften, wie der Genom-Editierung, der Zellreprogrammierung und der 3D-Zellkultur.

Die Erforschung und Nutzung von Organoiden, organähnlichen 3D-Zellaggregaten, stellen weiterhin ein hochdynamisches Feld in der Stammzellforschung dar. Die Reihe gut etablierter Hirn- und Darm-Organoide wurde inzwischen durch Organoide ergänzt, die diverse innere Organe repräsentieren. Diese eignen sich hervorragend für Studien der Zelldifferenzierung und für die Wirkstoffforschung und können als Krankheitsmodelle von großem Nutzen sein. Organoide haben sich ebenfalls als geeignete Modellsysteme für die Aufklärung von Infektionskrankheiten erwiesen. Für das Zika-Virus, das 2016 vor allem in Südamerika zirkulierte, gab es seinerzeit kein Modellsystem. An humanen zerebralen Organoiden konnten der virale Replikationszyklus und mögliche Therapiekonzepte studiert werden. 3D-Miniatur-Organoide können auch mit einem Bioprinter auf Oberflächen gedruckt werden. Auf einem Mikrofluidik-Chip lassen sie sich zu „Organ-on-a-chip“-Systemen verknüpfen. Biotechnologie-Unternehmen entwickeln diese Organchips mittlerweile immer erfolgreicher in Zusammenarbeit mit der Pharmaindustrie, um hPS-zellbasierte Plattformen für Wirkstoff- und Toxizitätstests zu etablieren und Tierversuche zu reduzieren.

Zudem eröffnen Methoden wie die Einzelzell-Analyse neue Einblicke in die Stammzellbiologie und die Abläufe der Organentwicklung. Eine Technologie, die sich rasant entwickelt hat, ist die Einzelzell-RNA-Sequenzierung. Damit lässt sich das Genaktivitätsmuster in einzelnen Zellen ermitteln – und das parallel für Hunderte Zellen gleichzeitig. Kombiniert mit leistungsfähiger Informatik für die Datenanalyse, lassen sich Entwicklungspfade von einzelnen Zellen in einem Zellverband rekonstruieren. Die Einzelzell-Genomik erlaubt detaillierte Einblicke in Entwicklungsvorgänge. Einzelzell-Analysen sind für verschiedene Organsysteme wie Lunge und Leber durchgeführt und ebenfalls an pluripotenten Stammzellen und an zerebralen Organoiden vorgenommen worden.

Auf internationaler Ebene ist in den vergangenen zwei Jahren eine Vielzahl von neuen klinischen Studien mit pluripotenten Stammzellen registriert worden, und von einigen abgeschlossenen Studien wurden ermutigende Ergebnisse berichtet. Die ursprüngliche Hoffnung, dass pluripotente Stammzellen neue Therapien ermöglichen, scheint sich mit einer gewissen Verzögerung zu realisieren. Aufgrund der Komplexität der Prozesse im lebenden Organismus und der Schwierigkeit, transplantierte Zellen in einen existierenden, wenn auch geschädigten, Zellverband zu integrieren, war mehr Forschung und Entwicklung erforderlich als ursprünglich angenommen. Fortschritte sind nicht nur mit pluripotenten Stammzell- oder daraus abgeleiteten Zellpopulationen zu verzeichnen, sondern auch bei anderen zellbasierten Therapien. Eine große Herausforderung bleibt dabei die industrielle Herstellung der klinisch eingesetzten Zellprodukte.

Weiterhin nehmen Staaten mit starken Programmen für die Stammzellforschung, wie beispielsweise China, Israel, Japan, und die USA sowie in Europa Dänemark, Großbritannien, die Niederlande und Schweden, im internationalen Vergleich eine Spitzenposition ein. Die Stammzellforschung in Deutschland kann im internationalen Wettbewerb auch dank öffentlicher Förderprogramme den Anschluss halten. In Deutschland werden derzeit klinische Studien mit Zellprodukten, die auf hPS-Zellen basieren, vorbereitet.

In Deutschland ermöglicht das Stammzellgesetz die Forschung mit hES-Zellen, ohne den durch das Embryonenschutzgesetz gewährleisteten Schutz menschlicher Embryonen einzuschränken. Hierzulande sind bis Ende 2017 insgesamt 132 Genehmigungen für die Einfuhr und/oder Verwendung von hES-Zellen erteilt worden,

davon 27 im Berichtszeitraum. Hier ist ein leichter Anstieg gegenüber dem vorigen Berichtszeitraum (2014/15: 17 neue Genehmigungen) zu verzeichnen. Auch für den betrachteten Berichtszeitraum ist deutlich erkennbar, dass die Verwendung von hES-Zellen weiterhin erforderlich ist, u. a. um eigenständige Erkenntnisse über die Eigenschaften von hES-Zellen und aus diesen abgeleiteten Zellen zu gewinnen.

Zusammenfassend lässt sich schlussfolgern, dass die Forschung mit hiPS-Zellen und hES-Zellen in Deutschland weiterhin mit sehr hoher Qualität erfolgt und die durch das Stammzellgesetz eröffneten Möglichkeiten wahrgenommen werden. hES-Zellen sind weiterhin Grundlage innovativer Forschungsvorhaben, und es besteht ein unvermindertes Interesse an Forschung unter Verwendung von hES-Zellen. Die Implikationen der Ergebnisse der internationalen Stammzellforschung für die bestehende Rahmensetzung in Deutschland und die deutsche Forschungslandschaft müssen jedoch weiterhin sorgfältig beobachtet werden.

4 Glossar

Adulte (somatische) Stammzellen (Gewebestammzellen): stammen von fötalen (d. h. allen vorgeburtlichen Entwicklungsstadien mit abgeschlossener Entwicklung von Organanlagen) bzw. geborenen Lebewesen ab und verfügen nur über ein eingeschränktes Differenzierungspotenzial. Sie kommen vermutlich in fast allen Organen vor und wurden beispielsweise im Knochenmark, in der Haut, aber auch im Fettgewebe, in der Nabelschnur und im Nabelschnurblut, im Gehirn und der Bauchspeicheldrüse bereits nachgewiesen. Adulte Stammzellen haben aber im Vergleich zu embryonalen Stammzellen in Zellkulturen ein deutlich geringeres Differenzierungspotenzial.

Allel: Ein Allel bezeichnet eine mögliche Ausprägung eines Gens, das sich an einem bestimmten Ort auf einem Chromosom befindet.

Allogen: Das zu transplantierende biologische Material wird von einem Spender (Donor) auf einen genetisch nicht identischen Empfänger übertragen. Hieraus können immunologische Abwehrreaktionen resultieren.

Autolog: Das zu transplantierende biologische Material stammt vom Empfänger selbst, ist genetisch identisch, und ist daher immunologisch kompatibel.

Blastozyste: Frühes Embryonalstadium, das beim Menschen etwa den Zeitraum vom vierten bis siebten Tag nach der Befruchtung umfasst. Die Blastozyste, ab dem 64-Zellstadium, ist bereits in eine innere Zellmasse (Embryoblast), aus der embryonale Stammzellen gewonnen werden können, und eine äußere Zellschicht (Trophoblast) differenziert.

Chimäre: Chimäre nennt man in Medizin und Biologie einen Organismus, der aus genetisch unterschiedlichen Zellen bzw. Geweben aufgebaut ist und dennoch ein einheitliches Individuum darstellt. In der Stammzellforschung wird der Begriff für Tiere verwendet, die im Embryonalstadium zusätzlich “fremde” pluripotente Stammzellen injiziert bekommen, die anschließend zur weiteren Entwicklung beitragen.

Designernukleasen: Sammelbegriff molekularbiologische Werkzeuge („Genscheren“) zur zielgerichteten Modifikation des Genoms.

Diapause: Vorübergehende Phase ausgeprägter Entwicklungsruhe (Dormanz) mit herabgesetztem Stoffwechsel, die meist einem endogenen Rhythmus unterliegt. Während der Diapause eines schwangeren Tieres wird die Embryogenese gestoppt bzw. stark verlangsamt.

Differenzierung: Prozess, bei dem durch Aktivierung genetischer Programme spezialisierte Zelltypen entstehen.

Epigenetik/Epigenese: Die **Epigenetik** beschäftigt sich mit der Feinregulation der Genexpression. Unter **epigenetischer Vererbung** wird die Weitergabe von Eigenschaften auf die Nachkommen verstanden, die nicht auf Abweichungen in der DNA-Sequenz zurückgehen, sondern auf eine vererbbare Änderung der Genregulation und Genexpression. **Epigenetik** unterscheidet sich von der **Epigenese**, welche den seit langem bekannten graduellen Prozess der embryonalen Morphogenese von Organen in all ihrer Komplexität beschreibt. Jedoch basieren die essentiellen zellularen Differenzierungsprozesse der Epigenese vor allem auf epigenetischen Vererbungsmechanismen einer Zellgeneration zur nächsten.

ES-Zellen: Embryonale Stammzellen (ES) sind in vitro in der Lage, sich in Zellen aller drei Keimblätter (Entoderm, Ektoderm und Mesoderm) sowie in Zellen der Keimbahn auszudifferenzieren. Sie werden daher als pluripotent bezeichnet. Sie werden aus pluripotenten Zellen der inneren Zellmasse in der Blastozyste gewonnen, die in vivo die Zellen des gesamten Embryos hervorbringen.

Genotyp: Der Genotyp repräsentiert die exakte genetische Ausstattung eines Organismus, die sämtliche in diesem Individuum vorhandenen Erbanlagen umfasst.

Genom-Editierung: Sammelbegriff für molekularbiologische Techniken zur zielgerichteten Veränderung des Genoms.

Haploide Zellen besitzen nur einen einfachen Chromosomensatz, d.h. es existiert von jedem Gen nur eine Kopie. Beim Menschen sind die Keimzellen die einzigen haploiden Zellen, während die meisten Körperzellen diploid sind, d.h. einen doppelten Chromosomensatz aus mütterlichen und väterlichen Erbanlagen besitzen. **Haploide ES-Zellen** werden aus parthenogenetischen Blastozysten gewonnen und sind insbesondere für die biomedizinische Forschung von großem Interesse (funktionelle Genomik, Entwicklungsbiologie).

hES: humane (menschliche) embryonale Stammzellen

hiPS-Zellen: humane (menschliche) iPS Zellen

hNT-ES-Zellen: Stammzellen, die durch eine Übertragung des Zellkerns (NT = nuclear transfer; Kerntransfer) einer Gewebezelle in eine entkernte menschliche Eizelle erzeugt werden.

HSC: Hämatopoetische oder Blutzellen-bildende Stammzellen

Imprinting: Epigenetischer Prozess, durch den von den beiden Allelen eines Gens nur eines, entweder das väterliche oder mütterliche, zur Geltung kommt.

Innere Zellmasse: Zellpopulation in der Blastozyste aus der der gesamte Organismus entsteht und aus der sich embryonale Stammzelllinien in der Zellkultur kultivieren lassen. Der Trophoblast wird von einer weitere Zellpopulation in der Blastozyste gebildet, die für die Versorgung des Embryos mit Nährstoffen notwendig ist.

In vitro: (lateinisch ‚im Glas‘) Vorgänge, die außerhalb eines lebenden Organismus stattfinden, im Gegensatz zu solchen, die im lebenden Organismus (in vivo) ablaufen

In vivo: (lateinisch ‚im Lebendigen) bezeichnet Prozesse, die im lebendigen Organismus ablaufen

iPS-Zellen, induzierte pluripotente Stammzellen: Zellen, die durch Dedifferenzierung (Reprogrammierung) somatischer Zellen entstanden sind und Eigenschaften pluripotenter Stammzellen aufweisen. In differenzierte Körperzellen werden hierbei z.B. Gene eingeschleust, die das embryonale Programm in der Zelle wieder anschalten und so Stammzelleigenschaften induzieren.

Keimblätter: Dreidimensionale Zellkonglomerate (oder Zellschichten) in der frühen Embryonalentwicklung, die den Ursprung für definierte, in späteren Entwicklungsphasen gebildete Gewebe und Organsysteme darstellen, unterschieden nach: **Entoderm** (auch: Endoderm): (Innenschicht) Zellen, aus denen neben dem Verdauungstrakt auch Leber und Bauchspeicheldrüse entstehen. **Mesoderm** (Mittelschicht): Aus dieser Zellschicht entstehen unter anderem Blut, Herz, Muskulatur und Skelett. **Ektoderm** (Außenschicht): Keimblatt, aus dem sich Haut und Nervensystem entwickeln.

Morphogenese: Ausgestaltung und Entwicklung von Organen oder Geweben eines pflanzlichen oder tierischen Organismus

Morula: Entwicklungsstadium der frühen Embryogenese mehrzelliger Lebewesen vor der Blastozyste. Es handelt sich bei der Morula um einen kugeligen Zellhaufen aus 16 bis 32 Zellen (Blastomeren), der nach den ersten Teilungen aus der befruchteten Eizelle hervorgeht.

MSC: Mesenchymale Stromazellen (manchmal auch Stammzelle)

Murine ES-Zellen (mES-Zellen): Embryonale Stammzellen der Maus

Organoide sind in vitro erzeugte organähnliche Zellaggregate. Sie stellen eine miniaturisierte und vereinfachte Version eines Organs dar.

OSKM: Abkürzung für die vier Transkriptionsfaktoren Oct4, Sox2, Klf4 und c-Myc, die zur Reprogrammierung von Köperzellen in pluripotente Stammzellen verwendet werden können.

Parthenogenese: Mit dem Begriff Parthenogenese („Jungfernzeugung”) wird ein Verfahren der künstlichen Erzeugung von Embryonen bezeichnet, bei der sich der Embryo aus einer unbefruchteten Eizelle entwickelt. In der Natur kommt Parthenogenese bei Säugetieren nicht vor. Auf künstlich induziertem Weg ist es hier jedoch möglich, eine Parthenogenese in vitro zu induzieren und Stammzellen auch aus humanen parthenogenetisch erzeugten Embryonen zu isolieren.

Plastizität: Bezeichnet die Fähigkeit von Zellen sich auch in Zellen anderer Gewebe entwickeln zu können.

Potenzial: Entwicklungsmöglichkeiten einer Zelle, unterschieden nach: **totipotent** (oder **omnipotent**): Aus der Zelle kann sich ein vollständiges Lebewesen entwickeln (bei menschlichen Embryonen nach derzeitigem Kenntnisstand jede Zelle bis längstens zum Achtzellstadium). **pluripotent**: Aus der Zelle kann sich jeder Zelltyp des Organismus entwickeln, jedoch kein vollständiges Lebewesen. Embryonale Stammzellen können die dafür erforderliche Plazenta, die aus dem Trophoblast der Blastozyste entsteht, nicht bilden und sind daher pluripotent. **multipotent**: Das Entwicklungspotenzial der Zelle beschränkt sich z. B. auf nur einige Zelltypen, die z. B. aus einem der Keimblätter hervorgehen.

Präimplantations-Diagnostik (PID): Zellbiologische und molekulargenetische Methoden zur Bestimmung von Gendefekten bei der Beurteilung von Embryonen in der In-vitro-Fertilisation

Proliferation: Zellproliferation bezeichnet die Vermehrung (Neubildung) von Zellen durch Zellteilung.

PS-Zellen: Pluripotente Stammzellen, umfasst sowohl embryonale Stammzellen (ES-Zellen) als auch induzierte pluripotente Stammzellen (iPS-Zellen)

Reprogrammierung: Oberbegriff für die Umwandlung einer Zelle in einen anderen Zelltypen durch Änderung der Genexpression. Als Reprogrammierung im Zusammenhang mit der Gewinnung von Stammzellen wird vor allem die Rückversetzung somatischer Zellen in einen frühembryonalen, pluripotenten Zustand bezeichnet.

Stammzelle: Zelle, die sich selbst über Zellteilung immer wieder erneuern und in mehrere Zelltypen ausdifferenzieren kann. Stammzellen werden nach ihrer Herkunft und ihrem Differenzierungspotential unterschieden: **Embryonale** Stammzellen bilden die innere Zellmasse (Embryoblast) der Blastozyste und sind pluripotent; **Somatische / adulte** Stammzellen (Gewebestammzellen) stammen von fötalen (d. h. allen vorgeburtlichen Entwicklungsstadien mit abgeschlossener Entwicklung von Organanlagen) bzw. geborenen Lebewesen und verfügen nur über ein eingeschränktes Differenzierungspotenzial.

SNCT, somatic cell nuclear transfer: Ist der Transfer eines Zellkerns aus einer Körperzelle (somatische Zelle) in eine “entkernte” Eizelle. Der entstandene Zellklon kann anschließend für wissenschaftliche Zwecke (z. B. Zellkulturen) oder in der regenerativen Medizin eingesetzt werden (therapeutisches Klonen). Dieser Klon kann jedoch auch der erste Schritt zum reproduktiven Klonen sein.

Transdifferenzierung: bezeichnet die direkte Umwandlung eines ausdifferenzierten Zelltyps in einen anderen.

Transprogrammierung (auch Umprogrammierung): Künstlich hervorgerufene Transdifferenzierung, z.B. durch Einführen spezifischer Steuerungsgene.

Trophoblast: Der Trophoblast ist die äußere Zellschicht einer Blastozyste und verbindet diesen mit der Gebärmutterwand. Zusammen mit der Plazenta, die teilweise auch vom Trophoblasten gebildet wird, ist der Trophoblast (extraembryonales Gewebe) für die Versorgung des Embryos mit Nährstoffen notwendig.

Xenogen: aus einer anderen Art stammend

Zerebral: Gehirn oder Großhirn betreffend

5 Zitierte Literatur

Amir, H., Touboul, T., Sabatini, K., Chhabra, D., Garitaonandia, I., Loring, J.F., Morey, R., Laurent, L.C. (2017). Spontaneous Single-Copy Loss of TP53 in Human Embryonic Stem Cells Markedly Increases Cell Proliferation and Survival. Stem Cells 35, 872–885.

Asterias Biotherapeutics, Inc. (2017). Asterias Announces Additional Motor Function Improvement at 6-months and 9-months Following Treatment with AST-OPC1 in Patients with Complete Cervical Spinal Cord Injuries. Unter: http://asteriasbiotherapeutics.com/inv_news_releases_text.php?releaseid=2244493&date=January+24%2C+2017 [30.06.2018].

Atkins, H.L., Bowman, M., Allan, D., Anstee, G., Arnold, D.L., Bar-Or, A., Bence-Bruckler, I., Birch, P., Bredeson, C., Chen, J., et al. (2016). Immunoablation and autologous haemopoietic stem-cell transplantation for aggressive multiple sclerosis: a multicentre single-group phase 2 trial. Lancet 388, 576–585.

Bader, E., Migliorini, A., Gegg, M., Moruzzi, N., Gerdes, J., Roscioni, S.S., Bakhti, M., Brandl, E., Irmler, M., Beckers, J., et al. (2016). Identification of proliferative and mature β-cells in the islets of Langerhans. Nature 535, 430–434.

Bagley, J.A., Reumann, D., Bian, S., Lévi-Strauss, J., Knoblich, J.A. (2017). Fused cerebral organoids model interactions between brain regions. Nat. Methods 14, 743–751.

Baker, D., Hirst, A.J., Gokhale, P.J., Juarez, M.A., Williams, S., Wheeler, M., Bean, K., Allison, T.F., Moore, H.D., Andrews, P.W., et al. (2016). Detecting Genetic Mosaicism in Cultures of Human Pluripotent Stem Cells. Stem Cell Reports 7, 998–1012.

Bar, S., Schachter, M., Eldar-Geva, T., Benvenisty, N. (2017). Large-Scale Analysis of Loss of Imprinting in Human Pluripotent Stem Cells. Cell Rep 19, 957–968.

Barker, R.A., Parmar, M., Kirkeby, A., Björklund, A., Thompson, L., Brundin, P. (2016). Are Stem Cell-Based Therapies for Parkinson's Disease Ready for the Clinic in 2016? J Parkinsons Dis 6, 57–63.

Bartfeld, S., Clevers, H. (2015). Organoids as Model for Infectious Diseases: Culture of Human and Murine Stomach Organoids and Microinjection of Helicobacter Pylori. J Vis Exp.

Bartfeld, S., Clevers, H. (2017). Stem cell-derived organoids and their application for medical research and patient treatment. J Mol Med 95, 729–738.

Bartfeld, S., Clevers, H. (2018). Aus Stammzellen abgeleitete Organoide und ihre Bedeutung für die biomedizinische Forschung und Therapie. In Stammzellforschung, M. Zenke, L. Marx-Stölting, and H. Schickl, eds. (Baden-Baden: Nomos Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG), pp. 90–96.

Basilico, S., Göttgens, B. (2017). Dysregulation of haematopoietic stem cell regulatory programs in acute myeloid leukaemia. J Mol Med 95, 719–727.

Basilico, S., Göttgens, B. (2018). Fehlregulierung der regulatorischen Programme von Blutstammzellen bei akuter myeloischer Leukämie (AML). In Stammzellforschung, M. Zenke, L. Marx-Stölting, H. Schickl, eds. (Baden-Baden: Nomos Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG), pp. 85–89.

Birey, F., Andersen, J., Makinson, C.D., Islam, S., Wei, W., Huber, N., Fan, H.C., Metzler, K.R.C., Panagiotakos, G., Thom, N., et al. (2017). Assembly of functionally integrated human forebrain spheroids. Nature 545, 54–59.

Bonas, U., Friedrich, B., Fritsch, J., Müller, A., Bettina, S.-S., Steinicke, H., Tanner, K., Taupitz, J., Vogel, J., Weber, M., et al. (2017). Ethische und rechtliche Beurteilung des genome editing in der Forschung an humanen Zellen.

Burridge, P.W., Li, Y.F., Matsa, E., Wu, H., Ong, S.-G., Sharma, A., Holmström, A., Chang, A.C., Coronado, M.J., Ebert, A.D., et al. (2016). Human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes recapitulate the predilection of breast cancer patients to doxorubicin-induced cardiotoxicity. Nat Med 22, 547–556.

Cabezas-Wallscheid, N., Buettner, F., Sommerkamp, P., Klimmeck, D., Ladel, L., Thalheimer, F.B., Pastor-Flores, D., Roma, L.P., Renders, S., Zeisberger, P., et al. (2017). Vitamin A-Retinoic Acid Signaling Regulates Hematopoietic Stem Cell Dormancy. Cell 169, 807–823.e819.

Camp, J.G., Treutlein, B. (2017). Human organomics: a fresh approach to understanding human development using single-cell transcriptomics. Development 144, 1584–1587.

Camp, J.G., Sekine, K., Gerber, T., Loeffler-Wirth, H., Binder, H., Gac, M., Kanton, S., Kageyama, J., Damm, G., Seehofer, D., et al. (2017). Multilineage communication regulates human liver bud development from pluripotency. Nature 546, 533–538.

Cao, N., Huang, Y., Zheng, J., Spencer, C.I., Zhang, Y., Fu, J.-D., Nie, B., Xie, M., Zhang, M., Wang, H., et al. (2016). Conversion of human fibroblasts into functional cardiomyocytes by small molecules. Science 352, 1216–1220.

Case, C., Nishimoto, K., Whiteley, E., Srivastava, R., Lebkowski, J. (2015). 222. AST-VAC2: An Embryonic Stem Cell-Derived Dendritic Cell Cancer Immunotherapy. Molecular Therapy 23, S87.

Chaudhuri, O., Gu, L., Klumpers, D., Darnell, M., Bencherif, S.A., Weaver, J.C., Huebsch, N., Lee, H.-P., Lippens, E., Duda, G.N., et al. (2016). Hydrogels with tunable stress relaxation regulate stem cell fate and activity. Nat Mater 15, 326–334.

Cliff, T.S., Wu, T., Boward, B.R., Yin, A., Yin, H., Glushka, J.N., Prestegaard, J.H., Dalton, S. (2017). MYC Controls Human Pluripotent Stem Cell Fate Decisions through Regulation of Metabolic Flux. Cell Stem Cell 21, 502–516.e509.

Collier, A.J., Panula, S.P., Schell, J.P., Chovanec, P., Plaza Reyes, A., Petropoulos, S., Corcoran, A.E., Walker, R., Douagi, I., Lanner, F., et al. (2017). Comprehensive Cell Surface Protein Profiling Identifies Specific Markers of Human Naive and Primed Pluripotent States. Cell Stem Cell 20, 874–890.e877.

Cugola, F.R., Fernandes, I.R., Russo, F.B., Freitas, B.C., Dias, J.L.M., Guimarães, K.P., Benazzato, C., Almeida, N., Pignatari, G.C., Romero, S., et al. (2016). The Brazilian Zika virus strain causes birth defects in experimental models. Nature 534, 267–271.

Cyranoski, D. (2017). Japanese man is first to receive “reprogrammed” stem cells from another person. Nature News.

Cyranoski, D. (2018a). How human embryonic stem cells sparked a revolution. Nature 555, 428–430.

Cyranoski, D. (2018b). “Reprogrammed” stem cells approved to mend human hearts for the first time. Nature 557, 619–620.

Cyranoski, D., Reardon, S. (2015). Chinese scientists genetically modify human embryos. Nature.

da Cruz, L., Fynes, K., Georgiadis, O., Kerby, J., Luo, Y.H., Ahmado, A., Vernon, A., Daniels, J.T., Nommiste, B., Hasan, S.M., et al. (2018). Phase 1 clinical study of an embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium patch in age-related macular degeneration. Nat Biotechnol 36, 328–337.

De Sousa, P.A., Steeg, R., Wachter, E., Bruce, K., King, J., Hoeve, M., Khadun, S., McConnachie, G., Holder, J., Kurtz, A., et al. (2017). Rapid establishment of the European Bank for induced Pluripotent Stem Cells (EBiSC) – the Hot Start experience. Stem Cell Res 20, 105–114.

Dekkers, J.F., Berkers, G., Kruisselbrink, E., Vonk, A., de Jonge, H.R., Janssens, H.M., Bronsveld, I., van de Graaf, E.A., Nieuwenhuis, E.E.S., Houwen, R.H.J., et al. (2016). Characterizing responses to CFTR-modulating drugs using rectal organoids derived from subjects with cystic fibrosis. Sci Transl Med 8, 344ra84–344ra84.

Dekkers, J.F., Wiegerinck, C.L., de Jonge, H.R., Bronsveld, I., Janssens, H.M., de Winter-de Groot, K.M., Brandsma, A.M., de Jong, N.W.M., Bijvelds, M.J.C., Scholte, B.J., et al. (2013). A functional CFTR assay using primary cystic fibrosis intestinal organoids. Nat Med 19, 939–945.

Dever, D.P., Bak, R.O., Reinisch, A., Camarena, J., Washington, G., Nicolas, C.E., Pavel-Dinu, M., Saxena, N., Wilkens, A.B., Mantri, S., et al. (2016). CRISPR/Cas9 β-globin gene targeting in human haematopoietic stem cells. Nature 539, 384–389.

Doeppner, T.R., Bähr, M., Hermann, D.M., Giebel, B. (2017). Concise Review: Extracellular Vesicles Overcoming Limitations of Cell Therapies in Ischemic Stroke. Stem Cells Transl Med 6, 2044–2052.

Dorrell, C., Schug, J., Canaday, P.S., Russ, H.A., Tarlow, B.D., Grompe, M.T., Horton, T., Hebrok, M., Streeter, P.R., Kaestner, K.H., et al. (2016). Human islets contain four distinct subtypes of β cells. Nature Communications 2016 7 7, 11756.

Dou, D.R., Calvanese, V., Sierra, M.I., Nguyen, A.T., Minasian, A., Saarikoski, P., Sasidharan, R., Ramirez, C.M., Zack, J.A., Crooks, G.M., et al. (2016). Medial HOXA genes demarcate haematopoietic stem cell fate during human development. Nature Cell Biology 18, 595–606.

Dyer, M.A. (2016). Biomedicine: An eye on retinal recovery. Nature 540, 350–351.

Eschenhagen, T., Bolli, R., Braun, T., Field, L.J., Fleischmann, B.K., Frisén, J., Giacca, M., Hare, J.M., Houser, S., Lee, R.T., et al. (2017). Cardiomyocyte Regeneration: A Consensus Statement. Circulation 136, 680–686.

Ettayebi, K., Crawford, S.E., Murakami, K., Broughman, J.R., Karandikar, U., Tenge, V.R., Neill, F.H., Blutt, S.E., Zeng, X.-L., Qu, L., et al. (2016). Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids. Science 353, 1387–1393.

Farahany, N.A., Greely, H.T., Hyman, S., Koch, C., Grady, C., Paşca, S.P., Sestan, N., Arlotta, P., Bernat, J.L., Ting, J., et al. (2018). The ethics of experimenting with human brain tissue. Nature 556, 429–432.

Farin, H.F., Jordens, I., Mosa, M.H., Basak, O., Korving, J., Tauriello, D.V.F., de Punder, K., Angers, S., Peters, P.J., Maurice, M.M., et al. (2016). Visualization of a short-range Wnt gradient in the intestinal stem-cell niche. Nature 530, 340–343.

Farlik, M., Halbritter, F., Müller, F., Choudry, F.A., Ebert, P., Klughammer, J., Farrow, S., Santoro, A., Ciaurro, V., Mathur, A., et al. (2016). DNA Methylation Dynamics of Human Hematopoietic Stem Cell Differentiation. Cell Stem Cell 19, 808–822.

Fattahi, F., Steinbeck, J.A., Kriks, S., Tchieu, J., Zimmer, B., Kishinevsky, S., Zeltner, N., Mica, Y., El-Nachef, W., Zhao, H., et al. (2016). Deriving human ENS lineages for cell therapy and drug discovery in Hirschsprung disease. Nature 531, 105–109.

Fehse, B. (2018). Genomeditierung durch CRISPR und Co. In Stammzellforschung, M. Zenke, L. Marx-Stölting, H. Schickl, eds. (Baden-Baden: Nomos Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG), pp. 97–114.

Firas, J., Polo, J.M. (2017). Towards understanding transcriptional networks in cellular reprogramming. Current Opinion in Genetics & Development 46, 1–8.

Fogarty, N.M.E., McCarthy, A., Snijders, K.E., Powell, B.E., Kubikova, N., Blakeley, P., Lea, R., Elder, K., Wamaitha, S.E., Kim, D., et al. (2017). Genome editing reveals a role for OCT4 in human embryogenesis. Nature 550, 67–73.

Fujii, M., Shimokawa, M., Date, S., Takano, A., Matano, M., Nanki, K., Ohta, Y., Toshimitsu, K., Nakazato, Y., Kawasaki, K., et al. (2016). A Colorectal Tumor Organoid Library Demonstrates Progressive Loss of Niche Factor Requirements during Tumorigenesis. Cell Stem Cell 18, 827–838.

Gabriel, E., Ramani, A., Karow, U., Gottardo, M., Natarajan, K., Gooi, L.M., Goranci-Buzhala, G., Krut, O., Peters, F., Nikolic, M., et al. (2017). Recent Zika Virus Isolates Induce Premature Differentiation of Neural Progenitors in Human Brain Organoids. Cell Stem Cell 20, 397–406.e5.

Garbuzova-Davis, S., Kurien, C., Thomson, A., Falco, D., Ahmad, S., Staffetti, J., Steiner, G., Abraham, S., James, G., Mahendrasah, A., et al. (2017). Endothelial and Astrocytic Support by Human Bone Marrow Stem Cell Grafts into Symptomatic ALS Mice towards Blood-Spinal Cord Barrier Repair. Sci Rep 7, 884.

Garitaonandia, I., Gonzalez, R., Christiansen-Weber, T., Abramihina, T., Poustovoitov, M., Noskov, A., Sherman, G., Semechkin, A., Snyder, E., and Kern, R. (2016). Neural Stem Cell Tumorigenicity and Biodistribution Assessment for Phase I Clinical Trial in Parkinson's Disease. Sci Rep 6, 34478.

Genea Biocells (2018). Stem Cell Bank. http://geneabiocells.com/technology-platform/stem-cell-bank [30.06.2018].

Giani, F.C., Fiorini, C., Wakabayashi, A., Ludwig, L.S., Salem, R.M., Jobaliya, C.D., Regan, S.N., Ulirsch, J.C., Liang, G., Steinberg-Shemer, O., et al. (2016). Targeted Application of Human Genetic Variation Can Improve Red Blood Cell Production from Stem Cells. Cell Stem Cell 18, 73–78.

Gjorevski, N., Sachs, N., Manfrin, A., Giger, S., Bragina, M.E., Ordóñez-Morán, P., Clevers, H., Lutolf, M.P. (2016). Designer matrices for intestinal stem cell and organoid culture. Nature 539, 560–564.

Gonzalez-Cordero, A., Kruczek, K., Naeem, A., Fernando, M., Kloc, M., Ribeiro, J., Goh, D., Duran, Y., Blackford, S.J.I., Abelleira-Hervas, L., et al. (2017). Recapitulation of Human Retinal Development from Human Pluripotent Stem Cells Generates Transplantable Populations of Cone Photoreceptors. Stem Cell Reports 9, 820–837.

Gu, M., Shao, N.-Y., Sa, S., Li, D., Termglinchan, V., Ameen, M., Karakikes, I., Sosa, G., Grubert, F., Lee, J., et al. (2017). Patient-Specific iPSC-Derived Endothelial Cells Uncover Pathways that Protect against Pulmonary Hypertension in BMPR2 Mutation Carriers. Cell Stem Cell 20, 490–504.e495.

Gu, W., Gaeta, X., Sahakyan, A., Chan, A.B., Hong, C.S., Kim, R., Braas, D., Plath, K., Lowry, W.E., Christofk, H.R. (2016). Glycolytic Metabolism Plays a Functional Role in Regulating Human Pluripotent Stem Cell State. Cell Stem Cell 19, 476–490.

Guhr, A., Kobold, S., Seltmann, S., Seiler Wulczyn, A.E.M., Kurtz, A., Löser, P. (2018). Recent Trends in Research with Human Pluripotent Stem Cells: Impact of Research and Use of Cell Lines in Experimental Research and Clinical Trials. Stem Cell Reports 11, 485–496.

Guo, G., Meyenn, von, F., Santos, F., Chen, Y., Reik, W., Bertone, P., Smith, A., Nichols, J. (2016). Naive Pluripotent Stem Cells Derived Directly from Isolated Cells of the Human Inner Cell Mass. Stem Cell Reports 6, 437–446.

Harrison, S.E., Sozen, B., Christodoulou, N., Kyprianou, C., Zernicka-Goetz, M. (2017). Assembly of embryonic and extraembryonic stem cells to mimic embryogenesis in vitro. Science 356, eaal1810.

Hawkins, K.E., Moschidou, D., Faccenda, D., Wruck, W., Martin-Trujillo, A., Hau, K.-L., Ranzoni, A.M., Sanchez-Freire, V., Tommasini, F., Eaton, S., et al. (2017). Human Amniocytes Are Receptive to Chemically Induced Reprogramming to Pluripotency. Mol. Ther. 25, 427–442.

Hikabe, O., Hamazaki, N., Nagamatsu, G., Obata, Y., Hirao, Y., Hamada, N., Shimamoto, S., Imamura, T., Nakashima, K., Saitou, M., et al. (2016). Reconstitution in vitro of the entire cycle of the mouse female germ line. Nature 539, 299–303.

Hirsch, T., Rothoeft, T., Teig, N., Bauer, J.W., Pellegrini, G., De Rosa, L., Scaglione, D., Reichelt, J., Klausegger, A., Kneisz, D., et al. (2017). Gene Therapy Creates Replacement Skin to Save a Dying Boy. Nature 551, 327–332.

Hockemeyer, D., Jaenisch, R. (2016). Induced Pluripotent Stem Cells Meet Genome Editing. Cell Stem Cell 18, 573–586.

Hohwieler, M., Illing, A., Hermann, P.C., Mayer, T., Stockmann, M., Perkhofer, L., Eiseler, T., Antony, J.S., Müller, M., Renz, S., et al. (2017). Human pluripotent stem cell-derived acinar/ductal organoids generate human pancreas upon orthotopic transplantation and allow disease modelling. Gut 66, 473–486.

hPSC Registry (2018). Human Pluripotency Stem Cell Registry. https://hpscreg.eu [30.06.2018].

Hsu, P.D., Lander, E.S., Zhang, F. (2014). Development and applications of CRISPR-Cas9 for genome engineering. Cell 157, 1262–1278.

Huang, Y., Zhang, X.-F., Gao, G., Yonezawa, T., Cui, X. (2017). 3D bioprinting and the current applications in tissue engineering. Biotechnol J 12, 1600734.

Human Cell Atlas Consortium (2018). The Human Cell Atlas. https://www.humancellatlas.org [30.06.2018].

International Stem Cell Corporation ISCO (2015). ISCO Receives Authorization to Initiate Phase I/IIa Clinical Trial of ISC-hpNSC for the Treatment of Parkinson's Disease – ISCO. http://internationalstemcell.com/2015/12/14/isco-receives-authorization-initiate-phase-iiia-clinical-trial-isc-hpnsc-treatment-parkinsons-disease/ [30.06.2018]

Jacob, A., Morley, M., Hawkins, F., McCauley, K.B., Jean, J.C., Heins, H., Na, C.-L., Weaver, T.E., Vedaie, M., Hurley, K., et al. (2017). Differentiation of Human Pluripotent Stem Cells into Functional Lung Alveolar Epithelial Cells. Cell Stem Cell 21, 472–488.e10.

Kadota, S., Pabon, L., Reinecke, H., Murry, C.E. (2017). In vivo Maturation of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes in Neonatal and Adult Rat Hearts. Stem Cell Reports 8, 278–289.

Kadoya, K., Lu, P., Nguyen, K., Lee-Kubli, C., Kumamaru, H., Yao, L., Knackert, J., Poplawski, G., Dulin, J.N., Strobl, H., et al. (2016). Spinal cord reconstitution with homologous neural grafts enables robust corticospinal regeneration. Nat Med 22, 479–487.

Kang, X., He, W., Huang, Y., Yu, Q., Chen, Y., Gao, X., Sun, X., Fan, Y. (2016). Introducing precise genetic modifications into human 3PN embryos by CRISPR/Cas-mediated genome editing. J. Assist. Reprod. Genet. 33, 581–588.

Karakikes, I., Termglinchan, V., Cepeda, D.A., Lee, J., Diecke, S., Hendel, A., Itzhaki, I., Ameen, M., Shrestha, R., Wu, H., et al. (2017). A Comprehensive TALEN-Based Knockout Library for Generating Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Based Models for Cardiovascular Diseases. Circ. Res. 120, 1561–1571.

Kashani, A.H., Lebkowski, J.S., Rahhal, F.M., Avery, R.L., Salehi-Had, H., Dang, W., Lin, C.-M., Mitra, D., Zhu, D., Thomas, B.B., et al. (2018). A bioengineered retinal pigment epithelial monolayer for advanced, dry age-related macular degeneration. Sci Transl Med 10, eaao4097.

Kastenhuber, E.R., Lowe, S.W. (2017). Putting p53 in Context. Cell 170, 1062–1078.

Kempf, H., Olmer, R., Haase, A., Franke, A., Bolesani, E., Schwanke, K., Robles-Diaz, D., Coffee, M., Göhring, G., Dräger, G., et al. (2016). Bulk cell density and Wnt/TGFbeta signalling regulate mesendodermal patterning of human pluripotent stem cells. Nature Communications 2016 7 7, 13602.

Kikuchi, T., Morizane, A., Doi, D., Magotani, H., Onoe, H., Hayashi, T., Mizuma, H., Takara, S., Takahashi, R., Inoue, H., et al. (2017). Human iPS cell-derived dopaminergic neurons function in a primate Parkinson's disease model. Nature 548, 592–596.

Kilens, S., Meistermann, D., Moreno, D., Chariau, C., Gaignerie, A., Reignier, A., Lelièvre, Y., Casanova, M., Vallot, C., Nedellec, S., et al. (2018). Parallel derivation of isogenic human primed and naive induced pluripotent stem cells. Nature Communications 2016 7 9, 360.

Kilpinen, H., Goncalves, A., Leha, A., Afzal, V., Alasoo, K., Ashford, S., Bala, S., Bensaddek, D., Casale, F.P., Culley, O.J., et al. (2017). Common genetic variation drives molecular heterogeneity in human iPSCs. Nature 546, 370–375.

Kim, J.-H., Kurtz, A., Yuan, B.-Z., Zeng, F., Lomax, G., Loring, J.F., Crook, J., Ju, J.H., Clarke, L., Inamdar, M.S., et al. (2017). Report of the International Stem Cell Banking Initiative Workshop Activity: Current Hurdles and Progress in Seed-Stock Banking of Human Pluripotent Stem Cells. Stem Cells Transl Med 6, 1956–1962.

Kime, C., Kiyonari, H., Ohtsuka, S., Kohbayashi, E., Asahi, M., Yamanaka, S., Takahashi, M., Tomoda, K. (2018). Implantation-Competent Blastocyst-Like Structures from Mouse Pluripotent Stem Cells. bioRxiv 309542.

Kirkeby, A., Nolbrant, S., Tiklova, K., Heuer, A., Kee, N., Cardoso, T., Ottosson, D.R., Lelos, M.J., Rifes, P., Dunnett, S.B., et al. (2017). Predictive Markers Guide Differentiation to Improve Graft Outcome in Clinical Translation of hESC-Based Therapy for Parkinson's Disease. Cell Stem Cell 20, 135–148.

Kleinstiver, B.P., Pattanayak, V., Prew, M.S., Tsai, S.Q., Nguyen, N.T., Zheng, Z., Joung, J.K. (2016). High-fidelity CRISPR-Cas9 nucleases with no detectable genome-wide off-target effects. Nature 529, 490–495.

Knoepfler, P. (2017). How risky are stem cell trials for Parkinson's beginning in China? – The Niche. Httpsipscell.com.

Komor, A.C., Kim, Y.B., Packer, M.S., Zuris, J.A., Liu, D.R. (2016). Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. Nature 533, 420–424.

Kwon, E.M., Connelly, J.P., Hansen, N.F., Donovan, F.X., Winkler, T., Davis, B.W., Alkadi, H., Chandrasekharappa, S.C., Dunbar, C.E., Mullikin, J.C., et al. (2017). iPSCs and fibroblast subclones from the same fibroblast population contain comparable levels of sequence variations. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.a. 114, 1964–1969.

Kyttälä, A., Moraghebi, R., Valensisi, C., Kettunen, J., Andrus, C., Pasumarthy, K.K., Nakanishi, M., Nishimura, K., Ohtaka, M., Weltner, J., et al. (2016). Genetic Variability Overrides the Impact of Parental Cell Type and Determines iPSC Differentiation Potential. Stem Cell Reports 6, 200–212.

La Manno, G., Gyllborg, D., Codeluppi, S., Nishimura, K., Salto, C., Zeisel, A., Borm, L.E., Stott, S.R.W., Toledo, E.M., Villaescusa, J.C., et al. (2016). Molecular Diversity of Midbrain Development in Mouse, Human, and Stem Cells. Cell 167, 566–580.e19.

Lamm, N., Ben-David, U., Golan-Lev, T., Storchová, Z., Benvenisty, N., Kerem, B. (2016). Genomic Instability in Human Pluripotent Stem Cells Arises from Replicative Stress and Chromosome Condensation Defects. Cell Stem Cell 18, 253–261.

Lancaster, M.A., Corsini, N.S., Wolfinger, S., Gustafson, E.H., Phillips, A.W., Burkard, T.R., Otani, T., Livesey, F.J., Knoblich, J.A. (2017). Guided self-organization and cortical plate formation in human brain organoids. Nat Biotechnol 35, 659–666.

Li, M., Belmonte, J.C.I. (2017). Ground rules of the pluripotency gene regulatory network. Nat Rev Genet 18, 180–191.

Li, X., Liu, D., Ma, Y., Du, X., Jing, J., Wang, L., Xie, B., Sun, D., Sun, S., Jin, X., et al. (2017). Direct Reprogramming of Fibroblasts via a Chemically Induced XEN-like State. Cell Stem Cell 21, 264–273.e267.

Liang, P., Xu, Y., Zhang, X., Ding, C., Huang, R., Zhang, Z., Lv, J., Xie, X., Chen, Y., Li, Y., et al. (2015). CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. Protein Cell 6, 363–372.

Lis, R., Karrasch, C.C., Poulos, M.G., Kunar, B., Redmond, D., Duran, J.G.B., Badwe, C.R., Schachterle, W., Ginsberg, M., Xiang, J., et al. (2017). Conversion of adult endothelium to immunocompetent haematopoietic stem cells. Nature 545, 439–445.

Llorens-Bobadilla, E., Zhao, S., Baser, A., Saiz-Castro, G., Zwadlo, K., Martin-Villalba, A. (2015). Single-Cell Transcriptomics Reveals a Population of Dormant Neural Stem Cells that Become Activated upon Brain Injury. Cell Stem Cell 17, 329–340.

Loh, K.M., Chen, A., Koh, P.W., Deng, T.Z., Sinha, R., Tsai, J.M., Barkal, A.A., Shen, K.Y., Jain, R., Morganti, R.M., et al. (2016). Mapping the Pairwise Choices Leading from Pluripotency to Human Bone, Heart, and Other Mesoderm Cell Types. Cell 166, 451–467.

Löser, P., Guhr, A., Kobold, S., Seiler Wulczyn, A.E.M. (2018). Zelltherapeutika auf der Basis humaner pluripotenter Stammzellen: internationale klinische Studien im Überblick. In Stammzellforschung, M. Zenke, L. Marx-Stölting, H. Schickl, eds. (Baden-Baden: Nomos Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG), pp. 115–138.

Ma, H., Marti-Gutierrez, N., Park, S.-W., Wu, J., Lee, Y., Suzuki, K., Koski, A., Ji, D., Hayama, T., Ahmed, R., et al. (2017). Correction of a pathogenic gene mutation in human embryos. Nature 548, 413–419.

Mall, M., Wernig, M. (2017). The novel tool of cell reprogramming for applications in molecular medicine. J Mol Med 95, 695–703.

Mall, M., Wernig, M. (2018). Die neue Technologie der zellulären Reprogrammierung und ihre Anwendung in der Medizin. In Stammzellforschung, M. Zenke, L. Marx-Stölting, H. Schickl, eds. (Baden-Baden: Nomos Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG), pp. 69–75.

Mall, M., Kareta, M.S., Chanda, S., Ahlenius, H., Perotti, N., Zhou, B., Grieder, S.D., Ge, X., Drake, S., Euong Ang, C., et al. (2017). Myt1l safeguards neuronal identity by actively repressing many non-neuronal fates. Nature 544, 245–249.

Mandai, M., Watanabe, A., Kurimoto, Y., Hirami, Y., Morinaga, C., Daimon, T., Fujihara, M., Akimaru, H., Sakai, N., Shibata, Y., et al. (2017). Autologous Induced Stem-Cell-Derived Retinal Cells for Macular Degeneration. N. Engl. J. Med. 376, 1038–1046.

Manley, N.C., Priest, C.A., Denham, J., Wirth, E.D., Lebkowski, J.S. (2017). Human Embryonic Stem Cell-Derived Oligodendrocyte Progenitor Cells: Preclinical Efficacy and Safety in Cervical Spinal Cord Injury. Stem Cells Transl Med 6, 1917–1929.

Mansour, A.A., Gonçalves, J.T., Bloyd, C.W., Li, H., Fernandes, S., Quang, D., Johnston, S., Parylak, S.L., Jin, X., Gage, F.H. (2018). An in vivo model of functional and vascularized human brain organoids. Nat Biotechnol 36, 432–441.

Mascetti, V.L., Pedersen, R.A. (2016). Human-Mouse Chimerism Validates Human Stem Cell Pluripotency. Cell Stem Cell 18, 67–72.

McCracken, K.W., Aihara, E., Martin, B., Crawford, C.M., Broda, T., Treguier, J., Zhang, X., Shannon, J.M., Montrose, M.H., Wells, J.M. (2017). Wnt/β-catenin promotes gastric fundus specification in mice and humans. Nature 541, 182–187.

McKenna, A., Findlay, G.M., Gagnon, J.A., Horwitz, M.S., Schier, A.F., Shendure, J. (2016). Whole-organism lineage tracing by combinatorial and cumulative genome editing. Science 353, aaf7907.

Menasché, P., Vanneaux, V., Hagège, A., Bel, A., Cholley, B., Cacciapuoti, I., Parouchev, A., Benhamouda, N., Tachdjian, G., Tosca, L., et al. (2015). Human embryonic stem cell-derived cardiac progenitors for severe heart failure treatment: first clinical case report. Eur. Heart J. 36, 2011–2017.

Menasché, P., Vanneaux, V., Hagège, A., Bel, A., Cholley, B., Parouchev, A., Cacciapuoti, I., Al-Daccak, R., Benhamouda, N., Blons, H., et al. (2018). Transplantation of Human Embryonic Stem Cell-Derived Cardiovascular Progenitors for Severe Ischemic Left Ventricular Dysfunction. J. Am. Coll. Cardiol. 71, 429–438.

Merkert, S., Martin, U. (2018). Targeted Gene Editing in Human Pluripotent Stem Cells Using Site-Specific Nucleases. In Engineering and Application of Pluripotent Stem Cells, U. Martin, R. Zweigerdt, I. Gruh, eds. (Cham: Springer International Publishing), pp. 169–186.

Merkert, S., Bednarski, C., Göhring, G., Cathomen, T., Martin, U. (2017). Generation of a gene-corrected isogenic control iPSC line from cystic fibrosis patient-specific iPSCs homozygous for p.Phe508del mutation mediated by TALENs and ssODN. Stem Cell Res 23, 95–97.

Merkle, F.T., Ghosh, S., Kamitaki, N., Mitchell, J., Avior, Y., Mello, C., Kashin, S., Mekhoubad, S., Ilic, D., Charlton, M., et al. (2017). Human pluripotent stem cells recurrently acquire and expand dominant negative P53 mutations. Nature 545, 229–233.

Mertens, J., Marchetto, M.C., Bardy, C., Gage, F.H. (2016). Evaluating cell reprogramming, differentiation and conversion technologies in neuroscience. Nat. Rev. Neurosci. 17, 424–437.

Miyagawa, S., Domae, K., Yoshikawa, Y., Fukushima, S., Nakamura, T., Saito, A., Sakata, Y., Hamada, S., Toda, K., Pak, K., et al. (2017). Phase I Clinical Trial of Autologous Stem Cell-Sheet Transplantation Therapy for Treating Cardiomyopathy. J Am Heart Assoc 6, e003918.

Mosteiro, L., Pantoja, C., Alcazar, N., Marión, R.M., Chondronasiou, D., Rovira, M., Fernandez-Marcos, P.J., Muñoz-Martin, M., Blanco-Aparicio, C., Pastor, J., et al. (2016). Tissue damage and senescence provide critical signals for cellular reprogramming in vivo. Science 354, aaf4445.

Müller, A., Marx-Stölting, L., Ott, E. (2015). Themenbereich Stammzellen: Aktuelle Entwicklungen der Stammzellforschung in Deutschland. B. Müller-Röber et al., eds. (Nomos Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG), pp. 148–209.

National Institutes of Health (2018). NIH Human Embryonic Stem Cell Registry. https://grants.nih.gov/stem_cells/registry/current.htm [30.06.2018].

Ng, E.S., Azzola, L., Bruveris, F.F., Calvanese, V., Phipson, B., Vlahos, K., Hirst, C., Jokubaitis, V.J., Yu, Q.C., Maksimovic, J., et al. (2016). Differentiation of human embryonic stem cells to HOXA+ hemogenic vasculature that resembles the aorta-gonad-mesonephros. Nat Biotechnol 34, 1168–1179.

Ocampo, A., Reddy, P., Martinez-Redondo, P., Platero-Luengo, A., Hatanaka, F., Hishida, T., Li, M., Lam, D., Kurita, M., Beyret, E., et al. (2016). In vivo Amelioration of Age-Associated Hallmarks by Partial Reprogramming. Cell 167, 1719–1733.e12.

Odorico, J., Markmann, J., Melton, D., Greenstein, J., Hwa, A., Nostro, C., Rezania, A., Oberholzer, J., Pipeleers, D., Yang, L., et al. (2018). Report of the Key Opinion Leaders Meeting on Stem Cell-Derived Beta Cells. Transplantation Publish Ahead of Print, 1.

Petropoulos, S., Edsgärd, D., Reinius, B., Deng, Q., Panula, S.P., Codeluppi, S., Plaza Reyes, A., Linnarsson, S., Sandberg, R., Lanner, F. (2016). Single-Cell RNA-Seq Reveals Lineage and X Chromosome Dynamics in Human Preimplantation Embryos. Cell 165, 1012–1026.

Quadrato, G., Nguyen, T., Macosko, E.Z., Sherwood, J.L., Min Yang, S., Berger, D.R., Maria, N., Scholvin, J., Goldman, M., Kinney, J.P., et al. (2017). Cell diversity and network dynamics in photosensitive human brain organoids. Nature 545, 48–53.

Ragni, E., Banfi, F., Barilani, M., Cherubini, A., Parazzi, V., Larghi, P., Dolo, V., Bollati, V., Lazzari, L. (2017). Extracellular Vesicle-Shuttled mRNA in Mesenchymal Stem Cell Communication. Stem Cells 35, 1093–1105.

Regev, A., Teichmann, S.A., Lander, E.S., Amit, I., Benoist, C., Birney, E., Bodenmiller, B., Campbell, P., Carninci, P., Clatworthy, M., et al. (2017). The Human Cell Atlas. Elife 6, 503.

Rivron, N.C., Frias-Aldeguer, J., Vrij, E.J., Boisset, J.-C., Korving, J., Vivié, J., Truckenmüller, R.K., van Oudenaarden, A., van Blitterswijk, C.A., Geijsen, N. (2018). Blastocyst-like structures generated solely from stem cells. Nature 557, 106–111.

Sagi, I., Benvenisty, N. (2016). Stem cells: Aspiring to naivety. Nature 540, 211–212.

Sagi, I., Chia, G., Golan-Lev, T., Peretz, M., Weissbein, U., Sui, L., Sauer, M.V., Yanuka, O., Egli, D., Benvenisty, N. (2016). Derivation and differentiation of haploid human embryonic stem cells. Nature 532, 107–111.

Sahakyan, A., Kim, R., Chronis, C., Sabri, S., Bonora, G., Theunissen, T.W., Kuoy, E., Langerman, J., Clark, A.T., Jaenisch, R., et al. (2017). Human Naive Pluripotent Stem Cells Model X Chromosome Dampening and X Inactivation. Cell Stem Cell 20, 87–101.

Sato, T., Vries, R.G., Snippert, H.J., van de Wetering, M., Barker, N., Stange, D.E., van Es, J.H., Abo, A., Kujala, P., Peters, P.J., et al. (2009). Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. Nature 459, 262–265.

Schaefer, K.A., Wu, W.-H., Colgan, D.F., Tsang, S.H., Bassuk, A.G., Mahajan, V.B. (2017). Unexpected mutations after CRISPR-Cas9 editing in vivo. Nat. Methods 14, 547–548.

Schwartz, S.D., Regillo, C.D., Lam, B.L., Eliott, D., Rosenfeld, P.J., Gregori, N.Z., Hubschman, J.-P., Davis, J.L., Heilwell, G., Spirn, M., et al. (2015). Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies. Lancet 385, 509–516.

Schwartz, S.D., Tan, G., Hosseini, H., Nagiel, A. (2016). Subretinal Transplantation of Embryonic Stem Cell-Derived Retinal Pigment Epithelium for the Treatment of Macular Degeneration: An Assessment at 4 Years. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 57, ORSFc1–ORSFc9.

Scognamiglio, R., Cabezas-Wallscheid, N., Thier, M.C., Altamura, S., Reyes, A., Prendergast, Á.M., Baumgärtner, D., Carnevalli, L.S., Atzberger, A., Haas, S., et al. (2016). Myc Depletion Induces a Pluripotent Dormant State Mimicking Diapause. Cell 164, 668–680.

Scudellari, M. (2016). How iPS cells changed the world. Nature 534, 310–312.

Seltmann, S., Lekschas, F., Müller, R., Stachelscheid, H., Bittner, M.-S., Zhang, W., Kidane, L., Seriola, A., Veiga, A., Stacey, G., et al. (2016). hPSCreg--the human pluripotent stem cell registry. Nucleic Acids Research 44, D757–D763.

Sharma, A., Burridge, P.W., McKeithan, W.L., Serrano, R., Shukla, P., Sayed, N., Churko, J.M., Kitani, T., Wu, H., Holmström, A., et al. (2017). High-throughput screening of tyrosine kinase inhibitor cardiotoxicity with human induced pluripotent stem cells. Sci Transl Med 9, eaaf2584.

Shiba, Y., Gomibuchi, T., Seto, T., Wada, Y., Ichimura, H., Tanaka, Y., Ogasawara, T., Okada, K., Shiba, N., Sakamoto, K., et al. (2016). Allogeneic transplantation of iPS cell-derived cardiomyocytes regenerates primate hearts. Nature 538, 388–391.

Shim, S.H., Kim, G., Lee, D.R., Lee, J.E., Kwon, H.J., Song, W.K. (2017). Survival of Transplanted Human Embryonic Stem Cell-Derived Retinal Pigment Epithelial Cells in a Human Recipient for 22 Months. JAMA Ophthalmol 135, 287–289.

Shlush, L.I., Mitchell, A., Heisler, L., Abelson, S., Ng, S.W.K., Trotman-Grant, A., Medeiros, J.J.F., Rao-Bhatia, A., Jaciw-Zurakowsky, I., Marke, R., et al. (2017). Tracing the origins of relapse in acute myeloid leukaemia to stem cells. Nature 547, 104–108.

Simian, M., Bissell, M.J. (2017). Organoids: A historical perspective of thinking in three dimensions. J Cell Biol 216, 31–40.

Simunovic, M., Brivanlou, A.H. (2017). Embryoids, organoids and gastruloids: new approaches to understanding embryogenesis. Development 144, 976–985.

Slaymaker, I.M., Gao, L., Zetsche, B., Scott, D.A., Yan, W.X., Zhang, F. (2016). Rationally engineered Cas9 nucleases with improved specificity. Science 351, 84–88.

Song, G., Pacher, M., Balakrishnan, A., Yuan, Q., Tsay, H.-C., Yang, D., Reetz, J., Brandes, S., Dai, Z., Pützer, B.M., et al. (2016). Direct Reprogramming of Hepatic Myofibroblasts into Hepatocytes In vivo Attenuates Liver Fibrosis. Cell Stem Cell 18, 797–808.

Song, W.K., Park, K.-M., Kim, H.-J., Lee, J.H., Choi, J., Chong, S.Y., Shim, S.H., Del Priore, L.V., Lanza, R. (2015). Treatment of macular degeneration using embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium: preliminary results in Asian patients. Stem Cell Reports 4, 860–872.

Steinberg, G.K., Kondziolka, D., Wechsler, L.R., Lunsford, L.D., Coburn, M.L., Billigen, J.B., Kim, A.S., Johnson, J.N., Bates, D., King, B., et al. (2016). Clinical Outcomes of Transplanted Modified Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in Stroke: A Phase 1/2a Study. Stroke 47, 1817–1824.

Stevens, K.R., Scull, M.A., Ramanan, V., Fortin, C.L., Chaturvedi, R.R., Knouse, K.A., Xiao, J.W., Fung, C., Mirabella, T., Chen, A.X., et al. (2017). In situ expansion of engineered human liver tissue in a mouse model of chronic liver disease. Sci Transl Med 9, eaah5505.

Suchy, F., Nakauchi, H. (2018). Interspecies chimeras. Current Opinion in Genetics & Development 52, 36–41.

Sugimura, R., Jha, D.K., Han, A., Soria-Valles, C., da Rocha, E.L., Lu, Y.-F., Goettel, J.A., Serrao, E., Rowe, R.G., Malleshaiah, M., et al. (2017). Haematopoietic stem and progenitor cells from human pluripotent stem cells. Nature 545, 432–438.

Sugita, S., Iwasaki, Y., Makabe, K., Kamao, H., Mandai, M., Shiina, T., Ogasawara, K., Hirami, Y., Kurimoto, Y., Takahashi, M. (2016). Successful Transplantation of Retinal Pigment Epithelial Cells from MHC Homozygote iPSCs in MHC-Matched Models. Stem Cell Reports 7, 635–648.

Suzuki, K., Tsunekawa, Y., Hernandez-Benitez, R., Wu, J., Zhu, J., Kim, E.J., Hatanaka, F., Yamamoto, M., Araoka, T., Li, Z., et al. (2016). In vivo genome editing via CRISPR/Cas9 mediated homology-independent targeted integration. Nature 540, 144–149.

Tachibana, M., Amato, P., Sparman, M., Gutierrez, N.M., Tippner-Hedges, R., Ma, H., Kang, E., Fulati, A., Lee, H.-S., Sritanaudomchai, H., et al. (2013). Human embryonic stem cells derived by somatic cell nuclear transfer. Cell 153, 1228–1238.

Takagi, R., Ishimaru, J., Sugawara, A., Toyoshima, K.-E., Ishida, K., Ogawa, M., Sakakibara, K., Asakawa, K., Kashiwakura, A., Oshima, M., et al. (2016). Bioengineering a 3D integumentary organ system from iPS cells using an in vivo transplantation model. Sci Adv 2, e1500887–e1500887.

Takahashi, K., Yamanaka, S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell 126, 663–676.

Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., Yamanaka, S. (2007). Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell 131, 861–872.

Tang, L., Zeng, Y., Du, H., Gong, M., Peng, J., Zhang, B., Lei, M., Zhao, F., Wang, W., Li, X., et al. (2017). CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human zygotes using Cas9 protein. Mol. Genet. Genomics 292, 525–533.

Tchieu, J., Zimmer, B., Fattahi, F., Amin, S., Zeltner, N., Chen, S., Studer, L. (2017). A Modular Platform for Differentiation of Human PSCs into All Major Ectodermal Lineages. Cell Stem Cell 21, 399–410.e7.

Tetteh, P.W., Basak, O., Farin, H.F., Wiebrands, K., Kretzschmar, K., Begthel, H., van den Born, M., Korving, J., de Sauvage, F., van Es, J.H., et al. (2016). Replacement of Lost Lgr5-Positive Stem Cells through Plasticity of Their Enterocyte-Lineage Daughters. Cell Stem Cell 18, 203–213.

Tewary, M., Ostblom, J., Prochazka, L., Zulueta-Coarasa, T., Shakiba, N., Fernandez-Gonzalez, R., Zandstra, P.W. (2017). A stepwise model of reaction-diffusion and positional information governs self-organized human peri-gastrulation-like patterning. Development 144, 4298–4312.

Theunissen, T.W., Friedli, M., He, Y., Planet, E., O'Neil, R.C., Markoulaki, S., Pontis, J., Wang, H., Iouranova, A., Imbeault, M., et al. (2016). Molecular Criteria for Defining the Naive Human Pluripotent State. Cell Stem Cell 19, 502–515.

Thomson, J.A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S.S., Waknitz, M.A., Swiergiel, J.J., Marshall, V.S., Jones, J.M. (1998). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science 282, 1145–1147.

Tiburcy, M., Hudson, J.E., Balfanz, P., Schlick, S., Meyer, T., Chang Liao, M.-L., Levent, E., Raad, F., Zeidler, S., Wingender, E., et al. (2017). Defined Engineered Human Myocardium With Advanced Maturation for Applications in Heart Failure Modeling and Repair. Circulation 135, 1832–1847.

Traxler, E.A., Yao, Y., Wang, Y.-D., Woodard, K.J., Kurita, R., Nakamura, Y., Hughes, J.R., Hardison, R.C., Blobel, G.A., Li, C., et al. (2016). A genome-editing strategy to treat β-hemoglobinopathies that recapitulates a mutation associated with a benign genetic condition. Nat Med 22, 987–990.

Treutlein, B., Lee, Q.Y., Camp, J.G., Mall, M., Koh, W., Shariati, S.A.M., Sim, S., Neff, N.F., Skotheim, J.M., Wernig, M., et al. (2016). Dissecting direct reprogramming from fibroblast to neuron using single-cell RNA-seq. Nature 534, 391–395.

Trounson, A., DeWitt, N.D. (2016). Pluripotent stem cells progressing to the clinic. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 17, 194–200.

Tsai, S.Q., Joung, J.K. (2016). Defining and improving the genome-wide specificities of CRISPR-Cas9 nucleases. Nat Rev Genet 17, 300–312.

UK Stem Cell Bank/NIBSC (2018). Cell Lines Catalog. http://www.nibsc.org/ukstemcellbank [30.06.2018].

van der Torren, C.R., Zaldumbide, A., Duinkerken, G., Brand-Schaaf, S.H., Peakman, M., Stangé, G., Martinson, L., Kroon, E., Brandon, E.P., Pipeleers, D., et al. (2017). Immunogenicity of human embryonic stem cell-derived beta cells. Diabetologia 60, 126–133.

Velten, L., Haas, S.F., Raffel, S., Blaszkiewicz, S., Islam, S., Hennig, B.P., Hirche, C., Lutz, C., Buss, E.C., Nowak, D., et al. (2017). Human haematopoietic stem cell lineage commitment is a continuous process. Nature Cell Biology 19, 271–281.

Völkner, M., Zschätzsch, M., Rostovskaya, M., Overall, R.W., Busskamp, V., Anastassiadis, K., Karl, M.O. (2016). Retinal Organoids from Pluripotent Stem Cells Efficiently Recapitulate Retinogenesis. Stem Cell Reports 6, 525–538.

Wagner, I., Wang, H., Weissert, P.M., Straube, W.L., Shevchenko, A., Gentzel, M., Brito, G., Tazaki, A., Oliveira, C., Sugiura, T., et al. (2017). Serum Proteases Potentiate BMP-Induced Cell Cycle Re-entry of Dedifferentiating Muscle Cells during Newt Limb Regeneration. Developmental Cell 40, 608–617.e6.

Watanabe, M., Buth, J.E., Vishlaghi, N., la Torre-Ubieta, de, L., Taxidis, J., Khakh, B.S., Coppola, G., Pearson, C.A., Yamauchi, K., Gong, D., et al. (2017). Self-Organized Cerebral Organoids with Human-Specific Features Predict Effective Drugs to Combat Zika Virus Infection. Cell Rep 21, 517–532.

Weinberger, F., Breckwoldt, K., Pecha, S., Kelly, A., Geertz, B., Starbatty, J., Yorgan, T., Cheng, K.-H., Lessmann, K., Stolen, T., et al. (2016). Cardiac repair in guinea pigs with human engineered heart tissue from induced pluripotent stem cells. Sci Transl Med 8, 363ra148–363ra148.

Welby, E., Lakowski, J., Di Foggia, V., Budinger, D., Gonzalez-Cordero, A., Lun, A.T.L., Epstein, M., Patel, A., Cuevas, E., Kruczek, K., et al. (2017). Isolation and Comparative Transcriptome Analysis of Human Fetal and iPSC-Derived Cone Photoreceptor Cells. Stem Cell Reports 9, 1898–1915.

Wolf, D.P., Morey, R., Kang, E., Ma, H., Hayama, T., Laurent, L.C., Mitalipov, S. (2017). Concise Review: Embryonic Stem Cells Derived by Somatic Cell Nuclear Transfer: A Horse in the Race? Stem Cells 35, 26–34.

Wollny, D., Zhao, S., Everlien, I., Lun, X., Brunken, J., Brüne, D., Ziebell, F., Tabansky, I., Weichert, W., Marciniak-Czochra, A., et al. (2016). Single-Cell Analysis Uncovers Clonal Acinar Cell Heterogeneity in the Adult Pancreas. Developmental Cell 39, 289–301.

Workman, M.J., Mahe, M.M., Trisno, S., Poling, H.M., Watson, C.L., Sundaram, N., Chang, C.-F., Schiesser, J., Aubert, P., Stanley, E.G., et al. (2017). Engineered human pluripotent-stem-cell-derived intestinal tissues with a functional enteric nervous system. Nat Med 23, 49–59.

Wu, J., Platero-Luengo, A., Sakurai, M., Sugawara, A., Gil, M.A., Yamauchi, T., Suzuki, K., Bogliotti, Y.S., Cuello, C., Morales Valencia, M., et al. (2017a). Interspecies Chimerism with Mammalian Pluripotent Stem Cells. Cell 168, 473–486.e15.

Wu, J., Vilariño, M., Suzuki, K., Okamura, D., Bogliotti, Y.S., Park, I., Rowe, J., McNabb, B., Ross, P.J., Belmonte, J.C.I. (2017b). CRISPR-Cas9 mediated one-step disabling of pancreatogenesis in pigs. Sci Rep 7, 10487.

Yang, J., Ryan, D.J., Wang, W., Tsang, J.C.-H., Lan, G., Masaki, H., Gao, X., Antunes, L., Yu, Y., Zhu, Z., et al. (2017a). Establishment of mouse expanded potential stem cells. Nature 550, 393–397.

Yang, Y., Liu, B., Xu, J., Wang, J., Wu, J., Shi, C., Xu, Y., Dong, J., Wang, C., Lai, W., et al. (2017b). Derivation of Pluripotent Stem Cells with In vivo Embryonic and Extraembryonic Potency. Cell 169, 243–257.e25.

Yao, Z., Mich, J.K., Ku, S., Menon, V., Krostag, A.-R., Martinez, R.A., Furchtgott, L., Mulholland, H., Bort, S., Fuqua, M.A., et al. (2017). A Single-Cell Roadmap of Lineage Bifurcation in Human ESC Models of Embryonic Brain Development. Cell Stem Cell 20, 120–134.

Yoshida, Y., Yamanaka, S. (2017). Induced Pluripotent Stem Cells 10 Years Later: For Cardiac Applications. Circ. Res. 120, 1958–1968.

Yoshihara, M., Araki, R., Kasama, Y., Sunayama, M., Abe, M., Nishida, K., Kawaji, H., Hayashizaki, Y., Murakawa, Y. (2017). Hotspots of De Novo Point Mutations in Induced Pluripotent Stem Cells. Cell Rep. 21, 308-315

Young, C.S., Hicks, M.R., Ermolova, N.V., Nakano, H., Jan, M., Younesi, S., Karumbayaram, S., Kumagai-Cresse, C., Wang, D., Zack, J.A., et al. (2016). A Single CRISPR-Cas9 Deletion Strategy that Targets the Majority of DMD Patients Restores Dystrophin Function in hiPSC-Derived Muscle Cells. Cell Stem Cell 18, 533–540.

Yu, J., Vodyanik, M.A., Smuga-Otto, K., Antosiewicz-Bourget, J., Frane, J.L., Tian, S., Nie, J., Jonsdottir, G.A., Ruotti, V., Stewart, R., et al. (2007). Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. Science 318, 1917–1920.

Zenke, M., et al. (2018). Stammzellforschung. M. Zenke, L. Marx-Stölting, H. Schickl, eds. (Baden-Baden: Nomos Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG).

Zhang, J., Ratanasirintrawoot, S., Chandrasekaran, S., Wu, Z., Ficarro, S.B., Yu, C., Ross, C.A., Cacchiarelli, D., Xia, Q., Seligson, M., et al. (2016). LIN28 Regulates Stem Cell Metabolism and Conversion to Primed Pluripotency. Cell Stem Cell 19, 66–80.

Zhou, Q., Melton, D.A. (2018). Pancreas regeneration. Nature 557, 351–358.

Zhou, Q., Wang, M., Yuan, Y., Wang, X., Fu, R., Wan, H., Xie, M., Liu, M., Guo, X., Zheng, Y., et al. (2016). Complete Meiosis from Embryonic Stem Cell-Derived Germ Cells In vitro. Cell Stem Cell 18, 330–340



Satz: Satzweiss.com Print, Web, Software GmbH, Mainzer Straße 116, 66121 Saarbrücken, www.satzweiss.com
Druck: Printsystem GmbH, Schafwäsche 1-3, 71296 Heimsheim, www.printsystem.de
Vertrieb: Bundesanzeiger Verlag GmbH, Postfach 10 05 34, 50445 Köln, Telefon (02 21) 97 66 83 40, Fax (02 21) 97 66 83 44, www.betrifft-gesetze.de
ISSN 0722-8333